

Annales de l'amélioration des plantes

Trimestriel

1974

Vol. 24 . N° 1

INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE
PARIS - GRIGNON
CHAIRE D'AGRICULTURE
CENTRE DE GRIGNON

inra

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Ann. Amélior. Plantes, AAPLAS 24 (1) 1-95 (1974)

AP24.1

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

149, rue de Grenelle, 75007 PARIS Tél. : 551-41-09.

Directeur général : J.-M. SOUPAULT

Directeur général adjoint : J. POLY

Inspecteurs généraux : E. BILIOTTI, P. BOUVAREL, A. CAUDERON,
G. FAUCONNEAU, R. FÉVRIER, P. MORNET, R. PÉRO, J. REBISCHUNG

Rédaction des Annales

Pour l'ensemble des Séries : J. POLY

Annales agronomiques.

- M. HALLAIRE, Chef du Département de Bioclimatologie, C. N. R. A.
- J. CHAUSSIDON, Chef du Département de Science du Sol, C. N. R. A.
- L. GACHON, Chef du Département d'Agronomie, 63100 Clermont-Ferrand.

Annales de l'Amélioration des Plantes.

- M. RIVES, Chef du Département de Génétique et d'Amélioration des Plantes, 33140 Pont de la Maye.

Annales de Phytopathologie.

- J. PONCHET, Chef du Département de Pathologie végétale, 06602 Antibes.

Annales de Zoologie - Écologie animale.

- E. BILIOTTI, Inspecteur général de la Recherche agronomique.

Annales de Zootechnie.

- A.-M. LEROY, Professeur honoraire à l'Institut national agronomique.
- A. RÉRAT, Chef du Département de Nutrition, C. N. R. Z.

Annales de Technologie agricole.

- P. DUPUY, Chef du Département de Technologie des Produits végétaux, 21034 Dijon Cedex.
- A. GUILBOT, Directeur de la Station de Biochimie et Physico-Chimie des Céréales et de leurs Dérivés C. E. R. D. I. A., Le Noyer-Lambert, 91300 Massy.
- G. MOCQUOT, Chef du Département de Technologie des Produits animaux, C. N. R. Z.

Annales de Biologie animale, Biochimie, Biophysique.

- G. FAUCONNEAU, Inspecteur général de la Recherche agronomique.
- A. FRANÇOIS, Directeur de Recherche à l'I. N. R. A., Directeur du Centre national de Coordination des Études et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation.
- C. THIBAUT, Chef du Département de Physiologie animale, C. N. R. Z.

Annales des Sciences forestières.

- P. BOUVAREL, Inspecteur général de la Recherche agronomique, Chef du Département de Recherches forestières, C. N. R. F.
- J.-P. CHESNEAU, École nationale du Génie rural, des Eaux et des Forêts, 54000 Nancy.
- J. PARDÉ, Directeur de la Station de Sylviculture et de Production, C. N. R. F.

Annales de Génétique et de Sélection animale.

- P. MÉRAT, Directeur de la Station de Génétique factorielle, C. N. R. Z.
- B. VISSAC, Chef du Département de Génétique animale, C. N. R. Z.

Apidologie (Revue franco-allemande, co-édition I. N. R. A.-Deutscher-Imkerbund).

- J. LOUVEAUX, Directeur de la Station de Recherches sur l'Abeille et les Insectes sociaux, 91440 Bures sur Yvette.

Annales de Recherches vétérinaires.

- P. MORNET, Inspecteur général de la Recherche agronomique.

Annales d'Hydrobiologie.

- R. FÉVRIER, Inspecteur général de la Recherche agronomique.
- C. THIBAUT, Chef du Département de Physiologie animale, C. N. R. Z.
- R. VIBERT, Chef du Département d'Hydrobiologie, 64200 Biarritz.

Annales d'Économie et de Sociologie rurales.

- M. MAZOYER, Département d'Économie et de Sociologie rurales.

ADMINISTRATION ET SECRÉTARIAT DE LA RÉDACTION

Services des Publications de l'I. N. R. A., route de Saint-Cyr, 78000 VERSAILLES, Tél. : 950-75-22

ANNALES DE L'AMELIORATION DES PLANTES

VOL. 24 N° 1 1974

Nom de l'emprunteur

Emprunté le

Remis le

annales
de
l'amélioration
des plantes

Trimestriel

1974

Vol. 24 . N° 1

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

Reproduction, même partielle, interdite sans autorisation des auteurs
et de l'Institut national de la Recherche agronomique
à l'exception des résumés

IRRADIATION DE MICROSPORES EN CULTURE D'ANTHÈRES : ESSAI D'UNE NOUVELLE TECHNIQUE D'OBTENTION DE MUTATIONS IMMÉDIATEMENT DÉCELABLES ET FIXABLES (APPLICATION A *NICOTIANA TABACUM*)

Fanja MONDEIL

Laboratoire d'Amélioration des Plantes,
Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, Bâtiment 360,
91405 Orsay

RÉSUMÉ

Dans le but de considérer les effets de l'irradiation des microspores sur le développement embryonnaire, et de réunir quelques observations sur la morphologie des plantes haploïdes qui en sont issues, des rayonnements gamma furent appliqués sur des anthères androgénétiques de *Nicotiana tabacum*, aux doses de 1 000, 1 500 et 2 000 rads (DL_{50} calculée : 1 500 rads).

1. Les études cytologiques effectuées sur le développement embryonnaire ont permis de constater une augmentation des mitoses, suivie d'une accélération de la croissance embryonnaire mais aussi d'une mortalité précoce après irradiation.

2. Les traitements appliqués au-delà du 7^e jour de culture, stade où le proembryon possède en moyenne 4 cellules, ont pour effet d'accentuer la mortalité cellulaire.

3. Les modifications de morphologie et de coloration observées chez les plantes issues de microspores irradiées sont variées dès la génération traitée. Mais après doublement chromosomique et après contrôle de la mutation, nous avons constaté qu'il existait des caractères héréditaires (mutations) et des caractères non transmissibles (variations).

Les caractères modifiés non transmissibles portent sur l'aspect de la plante (en rosette, buissonnant, fascié ou dichotomisé), sur la forme des fleurs, particulièrement des pétales. Quant aux feuilles, à côté d'une gamme de variation de coloration (chimères, mosaïques, vert pâle), on rencontre des anomalies de forme (irrégularité du contour foliaire) et de texture (feuille épaissie, feuille glabre).

Parmi les mutants, le plus remarquable est le tabac « monstre » caractérisé par la présence d'excroissances sur les feuilles et les fleurs. Nous avons également obtenu des mutations de coloration foliaire (vert pâle, jaune) et de coloration florale (rouge vif, rose très pâle, blanc).

INTRODUCTION

L'induction de mutations par les agents mutagènes physiques a été essentiellement obtenue après traitement des graines ou de la plante entière à différents moments de son développement. Les premières études effectuées sur des plantes de

Nicotiana immédiatement après irradiation, furent entreprises dès 1928 (GOODSPEED et OLSON, 1928 ; GOODSPEED, 1929 et 1930). Plus récemment SCARASCIA (1957) publia une étude très détaillée des anomalies méiotiques observées dans les plantes de *Nicotiana tabacum* dérivant de graines traitées par les neutrons.

Toutes ces études ont montré qu'on obtenait des chimères et que l'on se heurtait à de grandes difficultés pour distinguer une mutation génique d'altérations chromosomiques — délétion ou translocation par exemple — surtout chez les espèces polyploïdes où un grand nombre d'altérations chromosomiques sont viables.

Pratiquement, il est surtout commode d'induire ces mutations sur des structures unicellulaires : pollens, ovules ou zygotes.

En 1964, GUHA et MAHESHWARI découvraient la régénération de la plante haploïde de *Datura* par culture d'anthères *in vitro*. Depuis, divers laboratoires ont essayé d'appliquer cette technique nouvelle à d'autres espèces. En particulier, chez le Tabac, NIRSCH et ses collaborateurs (1967, 1968, 1969) ont obtenu des haploïdes à partir de gamétophytes mâles provenant de cultures d'anthères. Ces travaux furent repris et approfondis par NAKATA et TANAKA (1968), SUNDERLAND et WICKS (1969 et 1970), ainsi que par PELLETIER (1973).

Cette technique apporte un progrès considérable pour la mutagenèse car elle permet d'éviter au moins les chimères que l'on peut obtenir en traitant des structures multicellulaires.

Intérêt de l'irradiation des microspores

Comparons l'effet de l'irradiation d'un zygote — unicellulaire, diploïde — à celui d'une irradiation de la microspore — unicellulaire, haploïde — de Tabac.

Un allotétraploïde comme le Tabac peut s'accommoder d'une proportion d'aberrations chromosomiques radio-induites, par différentes interactions de type « trans ». Ainsi, en traitant le zygote, même unicellulaire, il existe déjà une sorte d'écran à l'expression d'une aberration.

La survie des embryons sera relativement grande en irradiant ce zygote, mais la probabilité d'apparition, donc de sélection, de mutations multirécessives sera extrêmement faible, toute mutation récessive passant inaperçue.

Par contre, si nous irradiions une microspore androgénétique, la plante haploïde qui en est issue manifestera intégralement sa constitution génotypique à partir de son phénotype. Dans ce cas, toute mutation, même récessive, sera immédiatement visible et isolée dès la génération traitée (M_0) sauf cas éventuels d'interaction entre les génomes non homologues. Il est tout aussi facile de cribler des mutants physiologiques ou, dans un milieu sélectif, des plantes résistantes (aux maladies par exemple). La régénération d'haploïdes par androgenèse après irradiation de microspores constitue certainement une des meilleures méthodes dans ces deux derniers cas.

En pratique, les individus mutés issus de zygotes irradiés devront faire l'objet d'une longue série d'autofécondations pour atteindre un taux d'homozygotie satisfaisant (une dizaine de générations pour un diploïde).

En irradiant des microspores, il est possible d'isoler directement des mutants qui, par doublement de leur stock chromosomique, donneront en une seule génération des descendants strictement homozygotes. D'où un gain considérable de temps, de travail, de terrain et de matériel pour le sélectionneur.

A l'aide d'un matériel de choix — la microspore — et de techniques efficaces de production d'haploïdes *in vitro* et de traitement mutagène, le présent travail a pour but :

- de réunir quelques observations sur l'effet de l'irradiation sur le proembryon et sur le développement embryonnaire ultérieur ;
- de décrire les modifications morphologiques des plantes haploïdes, et de confirmer les mutations en les fixant dès la première génération.

MATÉRIEL ET MÉTHODES DE TRAVAIL

Matériel

Le Tabac a été utilisé pour la facilité avec laquelle il régénère des individus haploïdes avec une fréquence élevée. Rappelons que le *Nicotiana tabacum* est une espèce allotétraploïde à $2n = 48$ chromosomes, dont les espèces diploïdes constitutives seraient *N. tomentosa* et *N. sylvestris* ($2n = 24$ chromosomes).

Définition du système utilisé

Chez le Tabac, il est possible en excisant les étamines au moment de la première mitose pollinique, et en les plaçant sur le milieu recommandé par BOURGIN et NITSCH (1967), d'obtenir un grand nombre de plantes haploïdes qui proviennent chacune du développement d'un grain de pollen (fig. 1).

Après une première division mitotique, la microspore donne naissance à deux cellules : une cellule végétative (CV) et une cellule reproductrice (CR). Cette dernière engendre sur la plante deux noyaux spermatiques qui réalisent la double fécondation.

Les plantes haploïdes proviennent chez le Tabac du développement en embryon de la CV, qui commence à se diviser après 6 jours de culture environ. Les plantules émergent des anthères, en moyenne 6 semaines après la mise en culture.

Protocoles expérimentaux

a) *Constitution de lignées homozygotes.*

Dans un premier temps, il a été jugé nécessaire de s'assurer que la lignée de départ était rigoureusement homozygote pour être certain que les variations escomptées sont bien dues aux irradiations et non à une hétérogénéité génétique du matériel.

Pour cela, une plante haploïde issue d'anthère a été doublée à la colchicine et autofécondée. Elle a donné une lignée dont les anthères nous ont servi de matériel pour les expériences de mutagenèse (fig. 1).

b) *Techniques de traitements.*

Les irradiations ont été effectuées au Centre d'Études nucléaires de Saclay à partir de la source au Cobalt 60 qui débite 30 000 rads/heure.

Après avoir établi une courbe expérimentale de survie des microspores, nous avons calculé la dose létale pour 50 p. 100 des individus (DL_{50}) : elle se situe à 1 500 rads.

Les traitements ont été faits sur les anthères déjà mises en culture et sur les boutons floraux.

1. Deux types de traitements ont été appliqués sur les anthères.

1° Nous avons fait 16 lots d'anthères et nous les avons irradiés à 1 000, 1 500 et 2 000 rads à raison de 1 lot par jour ; chaque lot comportait des anthères témoins et des anthères irradiées.

Nous avons pu ainsi réunir quelques observations sur la sensibilité du proembryon aux rayons gamma.

2° Nous avons irradié à 1 500 rads, un même jour, toutes les anthères, aussitôt après la mise en culture, et fait des prélèvements au bout de 9, 13 et 19 jours (noté J₉, J₁₃ et J₁₉). Ces anthères ont été fixées à l'alcool acétique, et colorées selon la technique de Feulgen. L'écrasement des anthères entre lame et lamelle permit de faire des observations microscopiques et d'étudier ainsi le développement embryonnaire par comptage des embryons formés sur le nombre total de cellules observées.

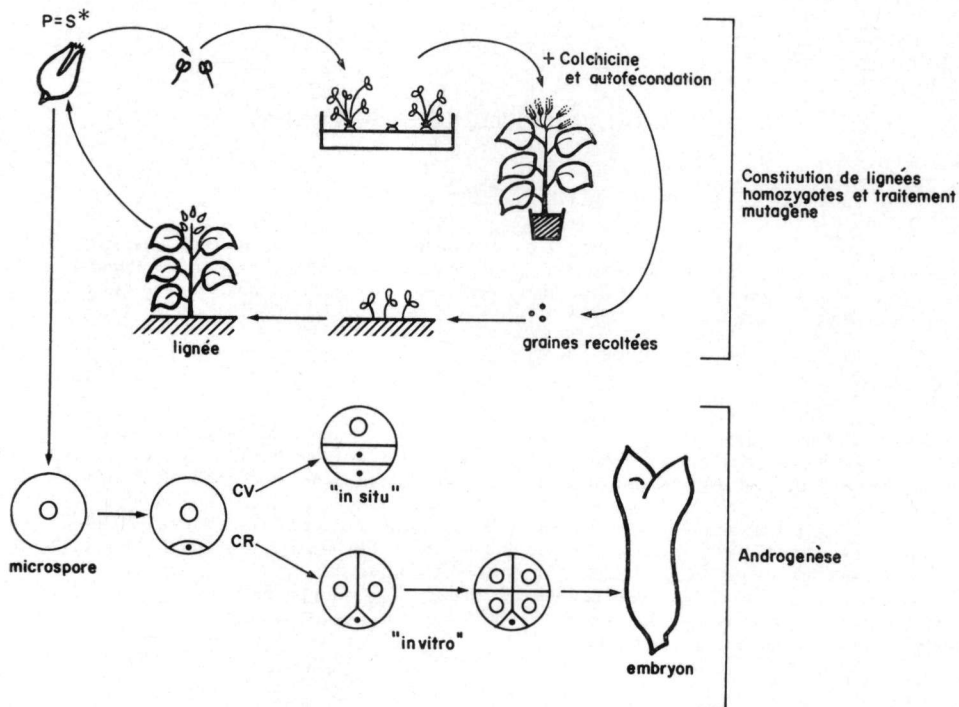


FIG. 1. — Obtention d'haploïdes par androgenèse et constitution de lignées homozygotes

$P = S$: La longueur des pétales égale la longueur des sépales sur le bouton floral.

Ce stade correspond à la première mitose pollinique, stade le plus favorable à l'androgenèse

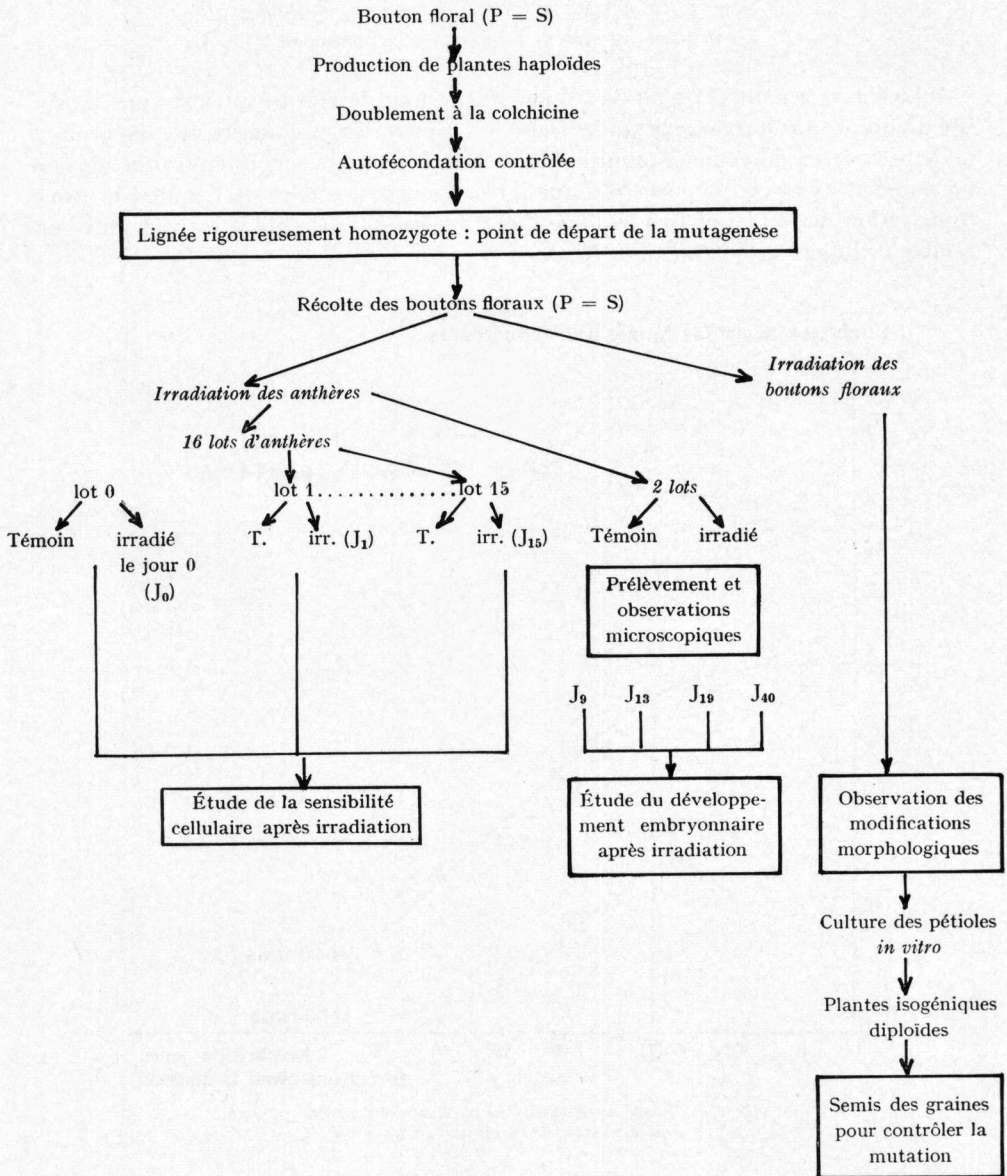
Après 40 jours (J₄₀), nous avons déjà observé des plantules sorties de quelques anthères. Les anthères apparemment vides furent traitées comme précédemment et la quantité d'haploïdes comptés comprend à la fois les plantules et les embryons.

2. Les boutons floraux ont reçu 1 000, 1 500 et 2 000 rads, au stade précis de la mitose pollinique. Extérieurement, ce stade correspond à une longueur des pétales égale à celle des sépales (noté $P = S$).

Les plantules régénérées furent transplantées sur un milieu de culture plus simple (BOURGIN et NITSCH, 1967) pour favoriser le développement racinaire, avant d'être repiquées en terre. Les observations morphologiques ont porté sur les caractères suivants : port de la plante, aspect et coloration des feuilles et des fleurs.

Des fragments de pétioles prélevés sur les plantes présentant de nettes modifications morphologiques par rapport aux témoins furent cultivés sur un troisième milieu de culture (NITSCH, NITSCH, ROSSINI et BUI DANG HA, 1967) afin de régénérer un cal, puis des plantules. Cette technique assure le doublement chromosomique des haploïdes, et permet ainsi de contrôler la mutation sur la descendance M_I (première génération issue de la génération traitée).

TABLEAU I

Tableau des manipulations

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

*Sensibilité des microspores aux rayons gamma,
à divers stades de l'évolution en embryon*

La figure 2 montre qu'au-delà du septième jour de culture il existe une mortalité d'autant plus forte que le stade irradié est plus tardif. A ce stade, le gamétophyte mâle possède en moyenne 4 cellules. Pour expliquer cette sensibilité du proembryon, on pourrait avancer l'hypothèse d'une intégration des cellules de l'embryon. Ainsi, toute lésion mortelle qui touche l'une d'entre elles se répercute à travers tout l'ensemble cellulaire et conduit à la létalité.

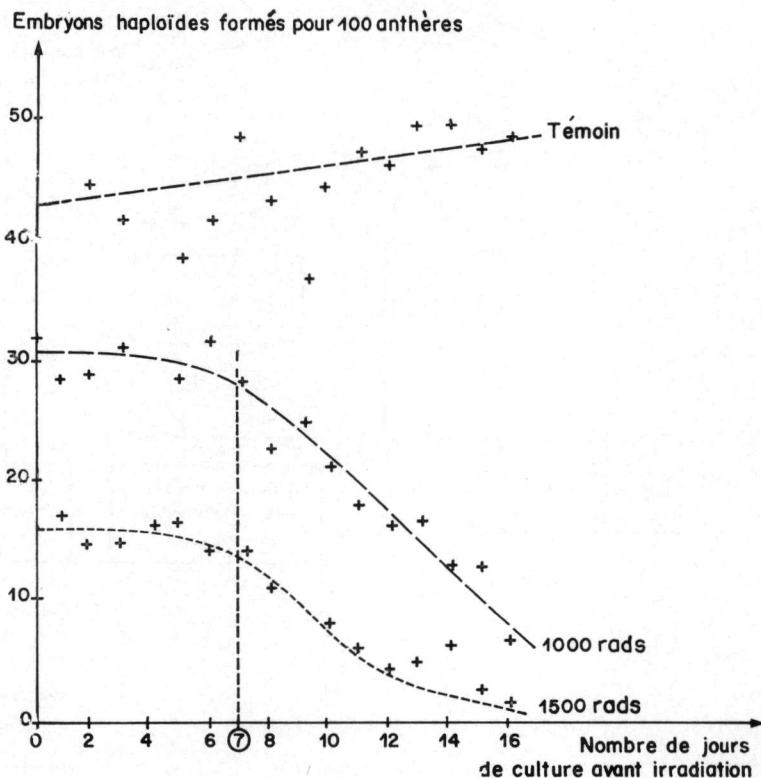


FIG. 2. — Étude de la sensibilité cellulaire aux rayons gamma, à divers stades de l'évolution en embryon

Nous avons également noté qu'aux stades ultérieurs, les embryons ne donnent pas toujours des plantes haploïdes et semblent faire place à des cals qui apparaissent plus tard.

La comparaison de l'évolution des microspores irradiées à celle des témoins (tabl. 2) nous permet de constater que :

- aussitôt après l'irradiation, il se produit une augmentation du nombre des mitoses. La différence est significative au seuil de probabilité de 1 p. 1 000 ;
- cette augmentation est suivie d'une accélération de la vitesse initiale de croissance embryonnaire ;
- la mortalité est plus forte par la suite chez les irradiés (fig. 3).

TABLEAU 2

*Évolution des microspores androgénétiques en embryons
chez le témoin et après une irradiation de 1500 rads*

Jours de prélèvements des anthères	Témoin			Après irradiation de 1 500 rads		
	Nbre cellules observées	Embryons	Pourcentage	Nbre cellules observées	Embryons	Pourcentage
J ₉ (après 9 jours) de culture)	24 607	122	0,49	17 895	385	2,15
J ₁₃	11 727	233	1,98	10 450	674	6,45
J ₁₉	15 327	934	6,09	17 983	1 944	10,81
J ₄₀	19 220)	620)		15 611)	403)	
	= 19 251	= 651	33,82	= 15 630	= 422	26,94
Plantules	31)	31)		19)	19)	

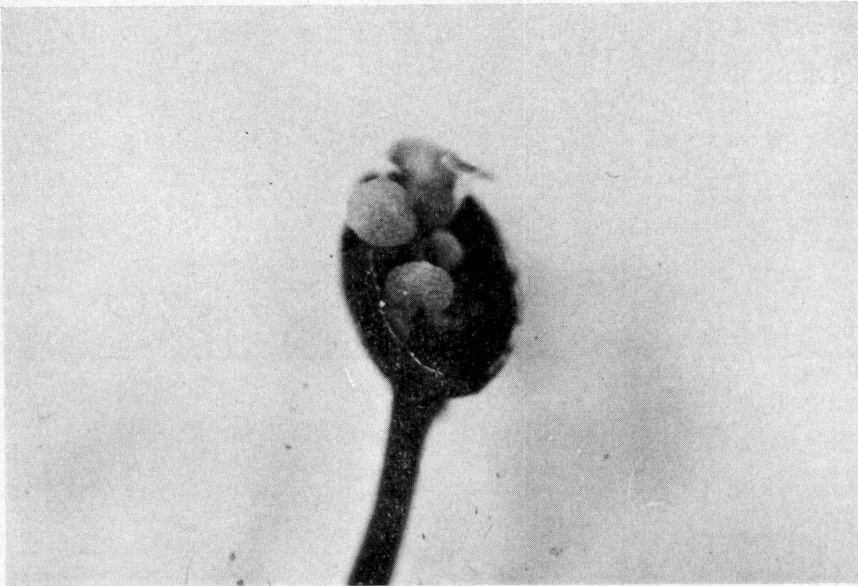


FIG. 3. — Plantules haploïdes issues de microspores après une irradiation de 1500 rads

Nous nous trouvons ici devant un phénomène analogue à celui qui suit les blessures, c'est-à-dire un déclenchement rapide et groupé des divisions cellulaires, par dérépression des sites inducteurs de mitoses.

Étude des modifications morphologiques

L'étude de 3 000 plantes haploïdes issues d'anthers irradiées nous a montré, dès la génération traitée, 295 cas de modification généralisée de la plante et 32 cas de modification en secteurs (chimères).

L'analyse de la descendance (M_1) de ces individus anormaux nous a permis de constater que ces modifications n'étaient pas toutes héréditaires et pouvaient entrer dans deux catégories : les variations non transmissibles et les mutations.

1. Cas des variations non transmissibles.

Par comparaison avec l'individu haploïde témoin, nous avons observé des variations de caractères telles que les fasciations (de tiges, de fleurs, de feuilles), les irrégularités de contour foliaire (fig. 4), les feuilles glabres, le port buissonnant et



FIG. 4. — Un cas de variation non transmissible : irrégularité des contours foliaires

celui en rosette. On note également différentes longueurs d'étamines (fig. 5) sur les fleurs.

En ce qui concerne la couleur des feuilles, à côté des nombreuses chimères, nous avons obtenu des déficiences chlorophylliennes généralisées, aussi bien chez les sujets traités que chez les témoins.



FIG. 5. — Différentes longueurs d'étamines observées

- 1 : Témoin.
- 2 : Irradiée (sans variation).
- 3 : Irradiée, spontanément doublée.
- 4 : Irradiée à longues étamines.



FIG. 6. — Tabac « monstre », présentant des excroissances sur les fleurs (mutant)

2. Cas des mutations.

Les caractères morphologiques les plus modifiés dans nos lignées mutées sont :

— la forme de la feuille et de la fleur : la mutation la plus marquante que nous ayons obtenue est certainement le Tabac « monstre » caractérisé par la présence d'excroissances sur ses feuilles et ses fleurs (1 500 r) ;

— la déficience pigmentaire généralisée : un des mutants présente non seulement des feuilles jaunes d'aspect chlorosé, mais aussi des fleurs de teinte rose très pâle (2 000 r) ;

— la coloration florale : nous avons pu isoler deux mutations de coloration qui sont le rouge vif (1 500 r) et le blanc (1 500 r).

Enfin, un seul cas de transmission héréditaire de la coloration foliaire vert pâle a été observé (1 500 r).

CONCLUSION

Nous nous permettons d'insister sur l'originalité et l'efficacité de la méthode de traitement d'organismes unicellulaires haploïdes.

Dès la génération d'irradiation des microspores, on isole sous forme directement visible des mutants morphologiques et des mutants de coloration. Nous avons pu vérifier qu'après doublement chromosomique, les plantes mutées donnaient bien à la génération suivante des descendances homogènes entièrement mutées.

Toutefois il faut préciser qu'actuellement cette méthode est limitée aux espèces sur lesquelles il est possible d'obtenir des descendants haploïdes androgénétiques en grand nombre.

Pour l'instant il n'y a que certaines Solanées, telles que le *Datura* (GUHA et MAHESHWARI, 1964, 1966, 1967) et le Tabac qui se présentent comme des matériels favorables. Mais les études en cours sur *Brassica* (KAMEYA et HINATA, 1970) et sur *Oryza* (NIIZEKI et OONO, 1968 ; HARN, 1969) donnent des résultats encourageants.

Reçu pour publication en août 1973.

SUMMARY

MICROSPORES IRRADIATION IN ANTHER CULTURE : TESTING A NEW TECHNIQUE TO OBTAIN MUTATIONS IMMEDIATELY DETECTED AND FIXED (APPLICATION TO *NICOTIANA TABACUM*)

In order to consider the effects of microspores irradiation on embryo development, and in order to observe the morphological responses of haploid plantlets derived from androgenetic anthers to ionizing irradiation, 1 000, 1 500 and 2 000 r of gamma rays were delivered on anthers of *Nicotiana tabacum* (DL_{50} range calculated : 1 500 r).

1. The cytological studies of embryo development revealed an apparent increase in irradiated microspores : cell division is stimulated but followed by an early mortality.

2. A sharp rise in lethality effects was observed when gamma rays were applied beyond the seventh day of culture, when the proembryo contains an average of 4 cells.

3. Morphological aberrations and colour changes in the Mo progeny derived from irradiated microspores are diverse. But after chromosome doubling and mutation checking out, all the plants were not recorded to have transmitted their aberrant characters. Thus, we obtained heritable characters (mutations) and not heritable characters (variations).

The variations characters include dwarfing, excessive branching, fasciation and dichotomy of the stems, altered flower form, especially of petals. As to the leaves, they usually show induced changes in their colour (chlorotic areas, mosaic-colour changes, or an over-all colour changes), in their form (irregularity in outline) and in their texture (thickening, hairless leaf).

Among the mutants, a « monster » tobacco, with excrescences on the leaves and the flowers is certainly the most conspicuous. But mutants also include altered leaf colour (over-all pale green) and altered flower colour, (dark red, clear pink, white).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BOURGIN J. P., NITSCH J. P., 1967. Obtention de *Nicotiana* hybrides à partir d'étamines cultivées *in vitro*. *Ann. Physiol. vég.*, **9**, 377-382.
- GOODSPEED T. H., OLSON A. A., 1928. The production of variation in *Nicotiana* species by X-ray treatment of sex cells. *Proc. nat. Acad. Sci. Wash.*, **14**, 66-69.
- GOODSPEED T. H., 1929. The effects of X-rays and radium on species of the genus *Nicotiana*. *J. Hered.*, **20**, 243-259.
- GOODSPEED J. H., AVERY P., 1930. Nature and significance of structural chromosome alterations induced by X-rays and radium. *Cytologia*, **1**, 308-325.
- GUHA S., MASHESHWARI S. C., 1964. *In vitro* production of embryos from anthers of *Datura*. *Nature*, **204**, 497.
- GUHA S., MAHESHWARI S. C., 1966. Cell division and differentiation in the pollen grains of *Datura in vitro*. *Nature*, **212**, 97-98.
- GUHA S., MAHESHWARI S. C., 1967. Development of embryoids from pollen grain of *Datura in vitro*. *Phytomorphology*, **17**, 454-461.
- HARN C., 1969. Studies on the anther culture of rice. *Korean J. Breed.*, **1**, 1-11.
- KAMEYA T., HINATA K., 1970. Induction of haploid plants from pollen grains of *Brassica*. *Jap. J. Breed.*, **20**, 82-87.
- NAKATA K., TANAKA M., 1968. Differentiation of embryoids from developing germ cells in anther culture of tobacco. *Japan J. Genet.*, **43**, 65-71.
- NIIZEKI H., OONO K., 1968. Induction of haploid rice plants from anther culture. *Proc. Jap. Acad.*, **44**, 554-557.
- NITSCH J. P., NITSCH C., HAMON S., 1968. Réalisation expérimentale de l'androgénèse chez divers *Nicotiana*. *C. R. Soc. Biol.*, **162**, 369-376.
- NITSCH J. P., NITSCH C., ROSSINI L. M. E., BUI DANG HA D., 1967. The role of adenine in bud differentiation. *Phytomorphology*, **17**, 446-453.
- NITSCH J. P., NITSCH C., 1969. Haploid plants from pollen grains. *Science*, **163**, 85-87.
- PELLETIER G., 1973. Les conditions et les premiers stades de l'androgénèse *in vitro* chez *Nicotiana tabacum*. *Mémoires de la Soc. Bot. Fr., Colloque de Morphologie, Gif sur Yvette 23 et 24 mars 1972*, 261-267.
- SCARASCIA G. T., 1957. Ricerche sugli effetti della radiazione in *Nicotiana*. II. Modificazioni morfologiche ed irregolarità meiotiche in piante di *Nicotiana tabacum* L. derivate da semi trattati con neutroni termici. *Caryologia*, **10**, 304-329.
- SUNDERLAND N., 1970. Pollen plants and their significance. *New Sci.*, **16**, 142-144.
- SUNDERLAND N., WICKS F. M., 1969. Cultivation of haploid plants from tobacco pollen. *Nature*, **224**, 1227-1229.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA TUBÉRISATION DU GLAÏEUL D'ÉTÉ (*GLADIOLUS GRANDIFLORUS* HORT.)

J. COHAT

*Station d'Amélioration de la Pomme de terre
et des Plantes à bulbes, I. N. R. A.,
29208 Landerneau*

RÉSUMÉ

En jours courts (JC = 8 h 30) appliqués dès la levée, le Glaïeul forme plus tôt ses caïeux et son cormus de remplacement, et donne des plantes plus basses qu'en jours longs (JL = 16 h 30).

Des cormus conservés à 5°, 10°, 20° et 30°C pendant des durées croissantes (0 à 40 semaines) puis plantés à l'obscurité, à 20°C, tubérisent d'autant plus tôt que la conservation a eu lieu à température élevée et qu'elle a été longue. La tubérisation de la pousse peut même se faire en cours de conservation.

Chez des lots de plantes issues de cormus conservés à 10° ou 30°C puis cultivés sous deux photopériodes (JC et JL), la tubérisation la plus précoce s'observe chez les plantes issues de cormus conservés à 30°C et cultivées en jours courts.

Le déterminisme de la tubérisation du Glaïeul semble être sous la dépendance des actions exercées par la photopériode et la température au cours de la végétation et par les températures de conservation sur le cormus-mère.

I. — INTRODUCTION

La différenciation florale chez le Glaïeul se produit 4 à 6 semaines après la plantation. Pendant ce temps, les entre-nœuds inférieurs de la hampe florale, correspondant aux deux dernières gaines foliaires et aux 3 à 5 premières feuilles, s'épaississent pour donner naissance au cormus de remplacement. Chez les cormus de petit calibre, la différenciation florale ne s'effectue pas toujours et la tige se limite alors à 6 à 8 entre-nœuds courts qui s'épaississent et forment le nouveau cormus. Le cormus après plantation se vide progressivement de ses réserves, mais reste cependant attaché au nouveau cormus jusqu'à la récolte. Peu avant la floraison, les bourgeons axillaires des premières gaines foliaires, situés entre l'ancien et le nouveau cormus, émettent des stolons aplatis qui se ramifient. Les extrémités des ramifications se renflent pour

former les caïeux. Ces caïeux, formés en grand nombre (de 20 à plus de 200 par plante selon les variétés), sont utilisés pour la multiplication.

Il existe ainsi chez le Glaïeul deux types d'organes tubérisés : d'une part le cormus constitué par 5 à 7 entre-nœuds épaissis de la base de la tige, d'autre part les caïeux formés à l'extrémité de stolons ramifiés et dont le début de tubérisation peut être assez facilement observé.

L'influence des facteurs du milieu sur la tubérisation d'organes de réserve a été étudiée chez de nombreuses espèces. Une mise à jour de ces études a été faite par JOLIVET (1969). Chez le Glaïeul, plusieurs auteurs (KOSUGI, 1962 ; ASAHIRA *et al.*, 1968 ; IMANISHI *et al.*, 1970) ont montré que des photopériodes courtes (8-10 heures), appliquées peu avant ou après la floraison, ont peu d'influence sur le grossissement du cormus, mais augmentent par contre le nombre de caïeux formés. Cependant, ces auteurs n'ont pas suivi le grossissement du cormus ni la formation des caïeux : en effet, un seul contrôle portant sur le poids du nouveau cormus et des caïeux, ainsi que sur le nombre et le calibre des caïeux, est effectué 40 à 50 jours après la floraison.

Des températures moyennes (20°C) durant la végétation sont plus favorables à la tubérisation que des températures élevées (25°-30°C) (ASAHIRA *et al.*, 1968).

Des applications d'acide gibbérellique après émergence des hampes florales augmentent le nombre de caïeux formés (IMANISHI *et al.*, 1970). La kinétine induit la formation de caïeux à l'extrémité de stolons cultivés *in vitro*, alors que l'acide gibbérellique l'inhibe (GINZBURG et ZIV, 1973).

Dans un travail antérieur, COHAT et LE NARD (1968) ont montré que les températures élevées de conservation avant plantation au champ avançaient le grossissement du nouveau cormus et conduisent à des rendements significativement supérieurs.

Ainsi la tubérisation du Glaïeul semble être influencée par deux groupes de facteurs agissant à deux niveaux :

- la photopériode et la température du milieu agissant sur la plante durant la végétation ;
- les conditions de conservation, en particulier température et durée, intervenant indirectement par action sur le cormus-mère avant plantation.

Il a donc paru intéressant de mieux définir le rôle respectif de ces facteurs dans la tubérisation du Glaïeul (précocité de formation des caïeux et grossissement du nouveau cormus) en étudiant successivement :

- a) l'influence de photopériodes différentes appliquées dès la levée des plantes ;
- b) l'action de la température et de la durée de conservation des cormus (c'est-à-dire l'influence de leur état physiologique) ;
- c) l'action combinée de l'état physiologique du cormus-mère et de la photopériode.

II. — MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Première série d'essais

Des cormus de calibre 4/5 (4 à 5 cm de circonférence) appartenant aux variétés « Happy End », « White Friendship » et « Carmen » sont conservés à 10°-15°C du 7 novembre au 17 février. A cette date, 48 cormus par variété sont plantés dans des pots (diamètre 9 cm) contenant de la vermi-

culite humectée par la solution nutritive de HOUGHLAND (1950), à raison d'un cormus par pot. Cette technique permet, par dépotage et repotage, de suivre la formation des caïeux et le grossissement du nouveau cormus sans léser le système racinaire.

Dès leur levée, 24 plantes par variété sont soumises à deux traitements photopériodiques :

- jour court (JC) déterminé par 8 h 30 d'éclairement naturel (de 9 heures à 17 h 30) ;
- jour long (JL) déterminé par la même durée d'éclairement naturel, puis par 8 heures d'éclairement supplémentaire de faible intensité (400-500 lux au niveau des plantes) appliquées de 17 h 30 à 21 h 30, puis de 5 heures à 9 heures.

Sous les 2 conditions, les plantes sont recouvertes de 17 h 30 à 9 heures par des films de polyéthylène opaque. En jour long, l'éclairement supplémentaire est fourni par des tubes fluorescents Philips, puissance 40 W, type TLS « Blanc soleil de luxe », à raison d'un tube par m².

Ces essais sont réalisés sous abri plastique chauffé où la température varie de 15° à 25°C.

Deuxième série d'essais

Des cormus de calibre 6/8 de la variété « Happy End » sont d'abord conservés à 5°C du 7 novembre au 17 décembre pour lever leur dormance. Ils sont ensuite placés à 4 températures différentes, 5°, 10°, 20° et 30°C. Toutes les 4 semaines à partir du 17 décembre, des cormus de ces 4 lots sont prélevés pour être plantés sur de la vermiculite humide, à 20°C, à l'obscurité. Dix plantations successives sont ainsi effectuées. La hauteur des pousses de 48 plantes de chaque lot est mesurée chaque semaine jusqu'à la huitième semaine après plantation. Les pousses produites par 48 plantes sont pesées 28 et 56 jours après plantation et l'état de grossissement de la base de la pousse est noté.

Troisième série d'essais

Des cormus de calibre 12/14 de la variété « Happy End » sont soumis à 2 modes de conservation :

- 10°C depuis le 16 novembre jusqu'au 10 juin (lot 10°C) ;
- 10°C depuis le 16 novembre jusqu'au 2 février, puis 30°C du 2 février au 10 juin, soit durant 129 jours (lot 30°C).

Le 10 juin, 34 cormus de chaque traitement sont plantés sous chacune des 2 photopériodes utilisées dans le premier essai (jour court de 8 h 30, jour long de 16 h 30). Quatre arrachages sont effectués pour suivre le grossissement du nouveau cormus jusqu'à la récolte (28 octobre).

III. — RÉSULTATS

A. — Influence de la photopériode

Les résultats relatifs à l'influence de la photopériode sont donnés dans les tableaux 1 et 2 et la figure 1. Les caïeux se forment environ 5 à 6 semaines plus tôt en jours courts qu'en jours longs (tabl. 1). Le grossissement du nouveau cormus commence plus tôt en jours courts, mais il s'arrête aussi plus tôt comme le montrent les valeurs successives du diamètre du cormus. Ainsi pour la variété « Carmen », le grossissement du cormus est pratiquement terminé le 11 juin en jours courts, alors qu'en jours longs il se poursuit pratiquement jusqu'à la récolte. Ce décalage dans les courbes de grossissement chez la variété « Carmen » est illustré par la figure 1.

L'action de la photopériode sur le nombre de caïeux formés paraît moins évidente. La réponse de la plante aux jours courts varie selon les variétés, elle peut être favorable (variété « Happy End »), ou défavorable (variété « White Friendship »).

D'autre part, il est à noter que les plantes soumises à des jours courts ont une maturité plus précoce que celles cultivées sous des jours longs.

TABLEAU I

*Influence de la photopériode sur la tubérisation.**a* : pourcentage de plantes ayant initié des caïeux.*b* : diamètre du nouveau cormus en mm

Plantation du 17 février. Calibre 4/5

JC = 8 heures 30 d'éclairement

JL = 16 heures 30 d'éclairement

Variétés	« Happy End »				« Carmen »			
	<i>a</i>		<i>b</i>		<i>a</i>		<i>b</i>	
Traitements	JC	JL	JC	JL	JC	JL	JC	JL
Dates								
29-4	77				79	16	14,2	11,4
6-5	95				100	50		
13-5	100	5	20,5	13,1		66	18,3	13,2
28-5		58	24,2	15,8		91	22,3	15,6
3-6		84				95		
11-6		89	26,2	19,5		100	24,6	19,4
25-6		95	27,0	23,2			25,9	23,8
9-7			27,2	25,4			26,1	26,9
27-8			27,7	29,9			26,7	31,9

TABLEAU 2

Caractéristiques de plantes soumises à deux photopériodes

Plantation 17 février. Récolte 27 août

Les chiffres suivis de lettres différentes sont significativement différents au seuil 5 p. 100

Variétés	« Happy End »		« White Friendship »		« Carmen »	
	JC	JL	JC	JL	JC	JL
Hauteur des feuilles (cm)	51,1 ^a	80,8 ^b	61,9 ^a	85,9 ^b	62,6 ^a	80,5 ^b
Nombre de feuilles	3,9 ^a	5,2 ^b	3,9 ^a	5,1 ^b	2,7 ^a	4,1 ^b
Poids moyen des cormus récoltés (g).	7,6	10,5	5,4	10,5	7,4	13,0
Nombre de caïeux par cormus.	15,4	10,5	8,5	16,1	14,5	14,7

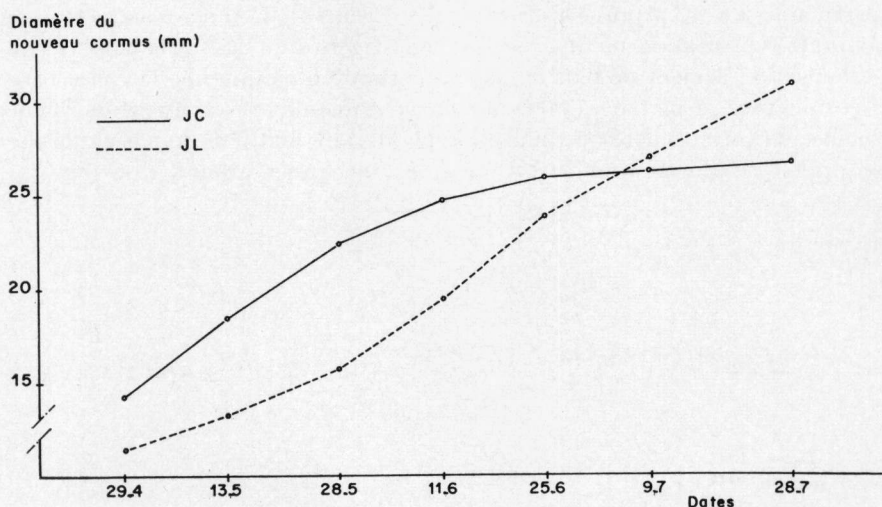


FIG. 1. — Influence de la photopériode sur l'évolution du grossissement du nouveau cormus
Variété « Carmen », calibre 4/5. Plantation du 17 février
JC = 8 h 30 d'éclairement
JL = 16 h 30 d'éclairement

B. — Influence de l'état physiologique du cormus-mère

Des cormus de la variété « Happy End » conservés à quatre températures sont donc plantés à l'obscurité à 20°C après des durées croissantes de conservation. Les hauteurs atteintes par les pousses 28 puis 56 jours après plantation en fonction de la température et de la durée de conservation préalable sont représentées sur la figure 2. Il faut noter que des courbes analogues peuvent être obtenues, si en ordonnées au lieu de la hauteur on porte le poids des pousses obtenu 28 puis 56 jours après plantation, indiquant par là une bonne corrélation entre la hauteur et le poids des pousses.

Après une conservation à 20° et 30°C, la hauteur des pousses 28 jours après plantation (fig. 2 a) augmente lorsque la durée de conservation passe de 0 à 12 semaines, elle demeure sensiblement constante pour des durées comprises entre 12 et 24 semaines pour diminuer rapidement lorsque la conservation dépasse 24 et surtout 28 semaines. Après conservation à 10°C, la hauteur augmente également jusqu'à la douzième semaine, elle reste ensuite constante pour marquer un léger fléchissement à partir de la vingt-huitième semaine de conservation. La longueur des pousses du lot 5°C augmente quand la conservation se prolonge jusqu'à la vingt-huitième semaine, pour demeurer ensuite sensiblement constante jusqu'à la fin de l'essai.

La hauteur atteinte 56 jours après plantation (fig. 2 b), qui représente en fait la taille finale des pousses, reste constante après des conservations à 20° et 30°C, comprises entre 0 et 28 semaines, puis elle diminue brusquement. Par contre, chez les lots 5° et 10°C, elle demeure sensiblement constante tout au long de l'essai.

Cinquante-six jours après plantation, la tubérisation de la base des pousses est nette et générale sur les lots conservés durant 12 semaines à 30°C, 20 semaines à 20°C

et 36 semaines à 10°C. Après conservation des cormus à 5°C, il n'a jamais été observé, 56 jours après plantation, de tubérisation même légère de la base de la pousse (tabl. 3). La tubérisation devient de plus en plus importante à mesure que la conservation à 30°, 20° ou 10°C se prolonge. Pour une même durée de conservation, les diamètres des nouveaux cormus, notés 56 jours après plantation, sont plus grands et plus homogènes après une conservation à 30°C qu'après une conservation à 20°C (fig. 3).

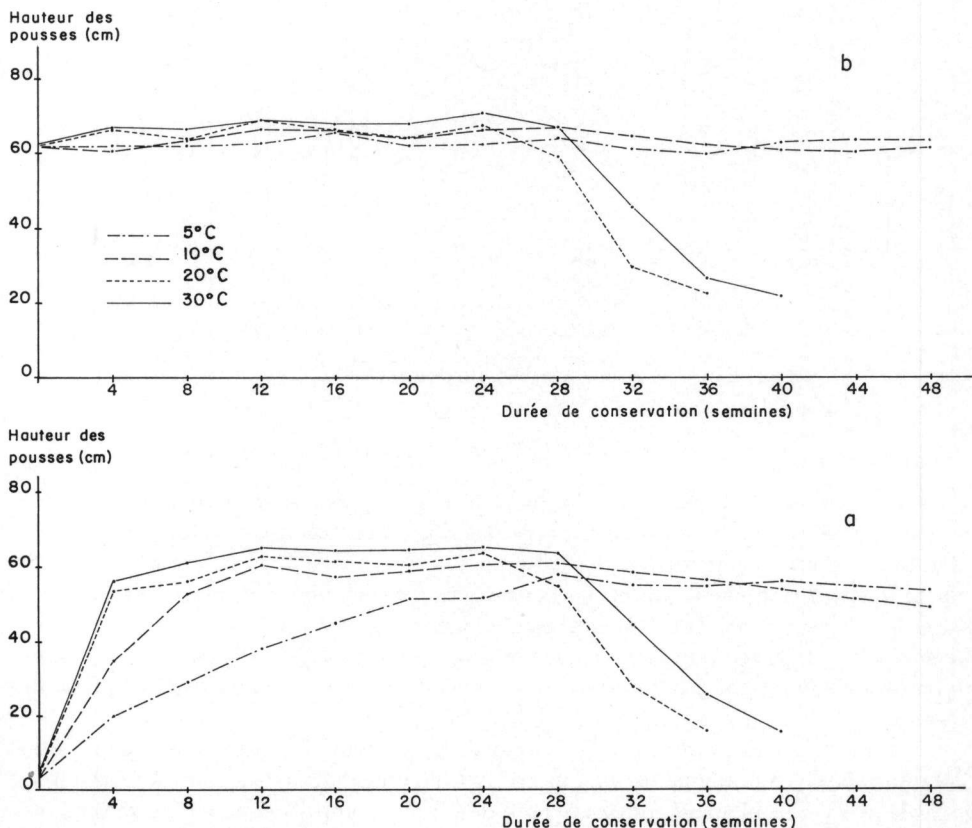


FIG. 2. — Évolution de la longueur des pousses produites à 20°C, à l'obscurité, par des cormus conservés pendant des durées croissantes à 5°, 10°, 20° et 30°C

Variété « Happy End », calibre 6/8

a : 28 jours après plantation

b : 56 jours après plantation

Au bout de 32 semaines de conservation, un certain nombre de cormus (22 sur 48 à 20°C, 9 sur 48 à 30°C) forment un nouveau cormus avant plantation. Ce phénomène n'a pas été observé à 10°C ni à 5°C.

Il faut noter aussi que la perte de poids en cours de conservation est particulièrement importante chez les lots conservés à 20° et 30°C où elle atteint respectivement 40 et 35 p. 100 du poids initial au bout de 32 semaines, alors qu'elle n'est que de 20 p. 100 à 10°C et de 8 p. 100 à 5°C.

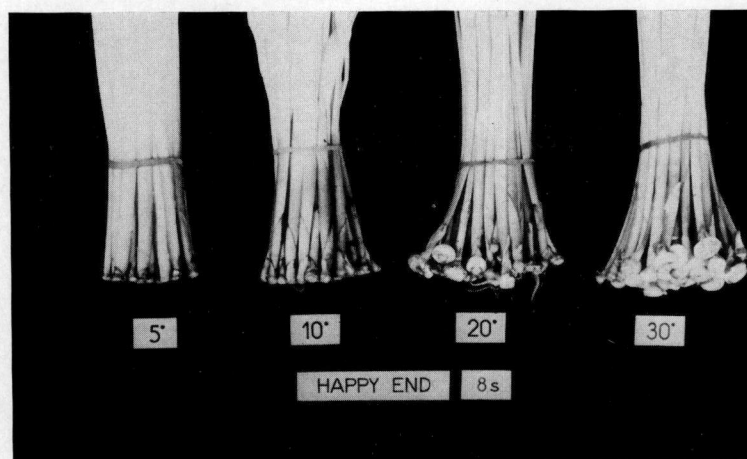


FIG. 3. — Aspect de la base des pousses produites à 20°C, à l'obscurité, par des cormus conservés durant 8 semaines à 5°, 10°, 20° et 30°C

Photographie prise 56 jours après plantation. On remarque que le volume du nouveau cormus augmente quand la température de conservation croît. Variété « Happy End ».

TABIEAU 3

Influence de la température et de la durée de conservation des cormus sur la tubérisation de leurs pousses après plantation à l'obscurité à 20°C

Nombre de pousses tubérisées sur 48 plantes, 56 jours après plantation.

b : formation du nouveau cormus sans émission de feuilles.

Variété « Happy End », calibre 6/8

Conservation	Durée de conservation en semaines					
	4	8	12	16	20	24
5°C	0	0	0	0	0	0
10°C	0	0	0	5	4	8
20°C	15	$\frac{24}{\varnothing \leq 8 \text{ mm}}$	29	30	$\frac{48}{\varnothing 8-12 \text{ mm}}$	$\frac{48}{\varnothing 8-15 \text{ mm}}$
30°C	25	$\frac{40}{\varnothing \leq 10 \text{ mm}}$	46	47	$\frac{48}{\varnothing 10-15 \text{ mm}}$	$\frac{48}{\varnothing 12-15 \text{ mm}}$

Conservation	Durée de conservation en semaines					
	28	32	36	40	44	48
5°C	0	0	0	0	0	0
10°C	24	40	48	48	$\frac{48}{\varnothing \leq 8 \text{ mm}}$	
20°C	$\frac{48}{\varnothing 10-20 \text{ mm}}$	$\frac{48}{22^b}$ $\frac{22^b}{\varnothing 15-25 \text{ mm}}$	$\frac{48}{25^b}$	$\frac{48}{40^b}$		
30°C	$\frac{48}{\varnothing 15-20 \text{ mm}}$	$\frac{48}{9^b}$ $\frac{9^b}{\varnothing 20-25 \text{ mm}}$	$\frac{48}{19^b}$	$\frac{48}{27^b}$	$\frac{48}{28^b}$	

C. — *Action combinée de l'état physiologique
du cormus-mère et de la photopériode*

Les courbes de grossissement du nouveau cormus pour les quatre traitements combinant deux modes de conservation et deux photopériodes sont représentées sur la figure 4.

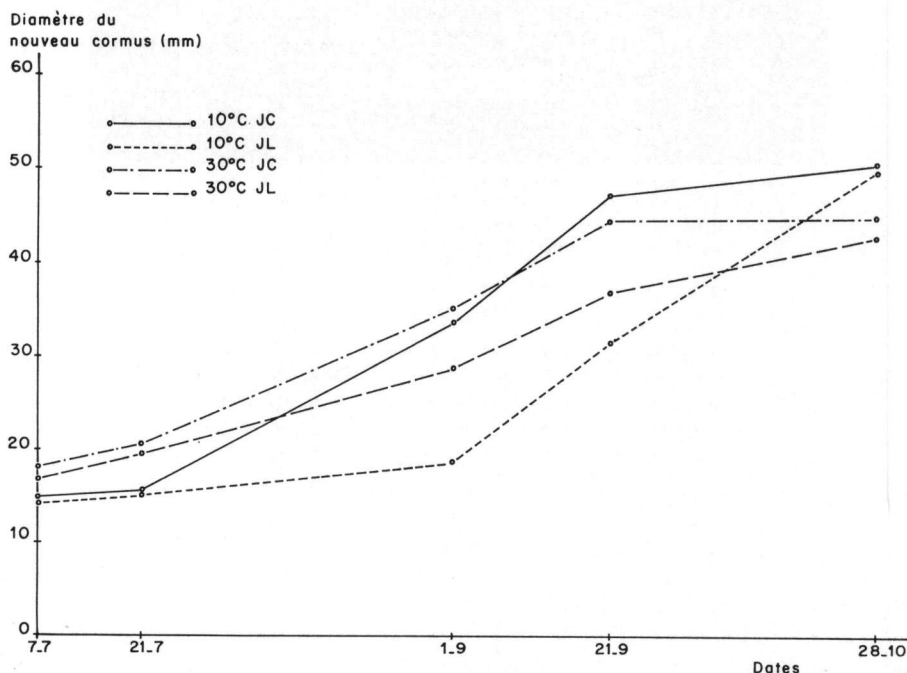


FIG. 4. — *Action de la photopériode et de la température de conservation des cormus sur le grossissement du nouveau cormus*

Variété « Happy End », calibre 12/14

JC = 8 h 30 d'éclairement

JL = 16 h 30 d'éclairement

Conservation préalable à 10°C ou 30°C

Comme nous l'avons vu précédemment, les températures élevées de conservation et les photopériodes courtes entraînent une tubérisation précoce. Pour une même longueur de jour, les lots conservés à 30°C tubérisent toujours plus tôt que ceux conservés à 10°C. De même, pour une même température de conservation, les plantes soumises à des jours courts tubérisent plus tôt que celles cultivées sous des jours longs.

De plus chez la plante, l'action favorable de la conservation à température élevée s'ajoute à celle apportée par les jours courts. Ainsi, la tubérisation la plus précoce est observée chez les plantes du lot 30°C-JC, et la plus tardive chez les plantes du lot 10°C-JL. Ce fait est illustré par la figure 5. C'est aussi chez ce dernier lot, dont le grossissement n'est manifestement pas terminé à la récolte, que la formation des caïeux est la plus tardive (50 p. 100 de plantes avec caïeux le 21-9, alors que le 1-9 toutes les plantes des trois autres lots avaient formé des caïeux).

Les mêmes conclusions peuvent être tirées des résultats donnés dans le tableau 4, en ce qui concerne l'action exercée par la photopériode et la température de conservation sur la hauteur des feuilles, sur celle de la hampe florale et sur la précocité de

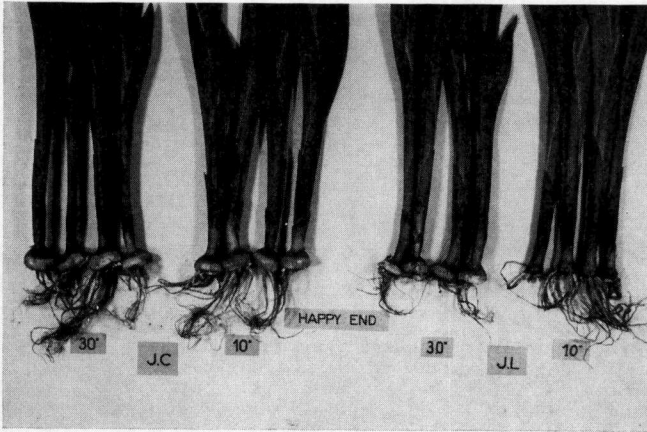


FIG. 5. — Action de la photopériode et de la température de conservation des cormus sur la tubérisation du nouveau cormus

Variété « Happy End ». Contrôle du 1^{er} septembre (cf. légende fig. 4)
La tubérisation du lot 10°C-JL est nettement plus tardive que celle des autres lots

TABLEAU 4

*Caractéristiques de plantes issues de cormus différemment conservés
et cultivées sous deux photopériodes*

Variété « Happy End », calibre 12/14. Plantation 10 juin. Récolte 28 octobre
Les chiffres suivis de lettres différentes sont significativement différents au seuil 5 p. 100

Traitements		Hauteur des feuilles (cm)	Hauteur de la hampe florale (cm)	Date 75 p. 100 floraison	Poids moyen des cormus récoltés (g)	Poids moyen de caïeux par cormus (g)
JC	10°C	78,7 ^a	109 ^a	14-8	33,5	3,3
	30°C	66,6 ^b	88 ^b	3-8	23,2	1,4
JL	10°C	98,8 ^c	116 ^c	30-8	30,7	1,3
	30°C	70,7 ^b	98 ^d	12-8	18,9	1,0

floraison. Ainsi, les plantes les plus basses (88 cm) et les plus précoces sont celles issues de cormus conservés à température élevée et cultivées sous des jours courts, les plus élevées (116 cm) et les plus tardives celles du lot conservé à température basse et cultivées sous des jours longs. Les jours courts et les températures élevées de conservation agissent dans le même sens sur ces caractères et leurs actions sont également additives.

IV. — DISCUSSION ET CONCLUSIONS

La tubérisation du Glaïeul, qu'il s'agisse du grossissement du nouveau cormus ou de la formation des caïeux, est influencée par la longueur du jour.

En jours courts, le cormus commence à grossir plus tôt, les caïeux se différencient précocement. Simultanément, le développement de la plante est accéléré, le volume foliaire (nombre et longueur des feuilles) est réduit et la maturité plus précoce. Ces faits ont pour conséquence de limiter le grossissement final du cormus en photopériode courte.

Si les jours courts ne sont appliqués qu'au moment ou après la floraison, à un stade où les plantes ont déjà atteint leur volume foliaire définitif, il est évident que les résultats obtenus peuvent être différents. C'est ainsi que ASAHIRA *et al.* (1968), IMANISHI *et al.* (1970) n'ont pas observé d'action nette de la longueur du jour sur le grossissement du nouveau cormus.

Tout comme la photopériode, les conditions de conservation du cormus-mère influencent fortement les processus de croissance et de tubérisation chez le Glaïeul cultivé, soit à l'obscurité, soit en plein champ.

La tubérisation est d'autant plus précoce et plus importante que la température de conservation a été élevée, du moins jusqu'à 30°C, et que la durée de conservation a été longue (tabl. 3). Au bout d'une certaine durée de conservation à température élevée, variable selon les variétés, les pousses peuvent tubériser avant plantation et la capacité de croissance des feuilles et des racines est alors minime ou nulle.

Les températures basses ne paraissent pas être inductrices de la tubérisation. Ainsi, il a été possible de conserver quelques cormus à 2°-4°C pendant plus de 4 ans sans observer d'épaississement de la pousse, ni de tubérisation rapide après plantation.

La formation d'un nouveau cormus en cours de conservation se manifeste plus tôt à 20°C qu'à 30°C, bien que chez les cormus conservés à 30°C l'induction de la tubérisation soit plus forte. On doit donc supposer que la température de 20°C est plus favorable à la réalisation de la tubérisation, ce qui est en accord avec les résultats obtenus par ASAHIRA *et al.* (1968).

De plus, les températures élevées de conservation accélèrent tous les processus de croissance. Elles exercent dans un premier temps une action favorable sur la vitesse de croissance des pousses. Si la conservation se prolonge, la vitesse de croissance diminue pour devenir nulle lorsque la pousse tubérise en cours de conservation.

La température de conservation agit donc à la fois sur la vitesse de croissance de la plante et sur le grossissement du nouveau cormus.

Le déterminisme de la tubérisation du Glaïeul apparaît donc être sous la dépendance des actions exercées par deux organes :

- l'appareil aérien sensible à la photopériode et à la température au cours de la végétation ;
- le cormus-mère dont l'action est fortement influencée par les conditions préalables de conservation.

Le rôle de chacun de ces organes peut être plus ou moins important selon les conditions. Ainsi, la tubérisation peut être sous la seule dépendance du feuillage dans le cas des semis et du cormus-mère dans le cas de la tubérisation à l'obscurité.

Mais en général il y a addition des deux actions. La tubérisation la plus précoce est obtenue en cultivant sous des jours courts des plantes issues de cormus conservés à température élevée. Sous cet aspect, la tubérisation du Glaïeul et celle de la Pomme de terre présentent des analogies. En effet, MADEC et PERENNEC (1959) ont mis en évidence chez cette dernière plante l'existence de deux organes inducteurs de la tubérisation : le tubercule-mère et le feuillage. Leurs rôles respectifs varient selon les conditions de milieu, l'un ou l'autre pouvant intervenir, selon les cas, de façon plus ou moins importante dans le déclenchement de la tubérisation.

D'autre part, chez le Glaïeul, il apparaît, comme chez la Pomme de terre, un certain antagonisme entre la croissance végétative et la tubérisation. En effet, à une tubérisation précoce correspond une réduction de l'appareil végétatif, que la tubérisation ait pour origine le feuillage ou le cormus-mère.

Le problème de la nature des relations entre la croissance et la tubérisation demeure cependant entier.

Reçu pour publication en janvier 1974.

SUMMARY

CONTRIBUTION TO THE STUDY

OF SUMMER GLADIOLUS (*GLADIOLUS GRANDIFLORUS* HORT.) TUBERIZATION

Under short days (SD = 8 h 30 mn), applied after emergence of the shoots, Gladiolus forms its cormels and replacement corm earlier and gives shorter plants than under long day lengths (LD = 16 h 30 mn).

Corms stored at 5°, 10°, 20° and 30°C for increasing periods of time (0 to 40 weeks), then planted in darkness at 20°C, tuberize earlier when storage has taken place at a high temperature and has been of long duration. Tuberization of the shoot may even occur during storage.

In batches of plants produced from corms stored at 10° or 30°C, then grown under two photoperiods (SD and LD), the earliest tuberization is observed in plants produced from corms stored at 30°C and grown under short day lengths.

The tuberization of *Gladiolus* seems to be dependent upon the actions of photoperiod and temperature during growth, and storage temperatures of the parent corm.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ASAHIRA T., IMANISHI H., TSUKAMOTO Y., 1968. Studies on the cormel formation in Gladiolus. *Mem. Coll. Agric. Kyoto Univ.*, **93**, 21-34.
- COHAT J., LE NARD M., 1968. Influence des températures de conservation des cormus de Glaïeul sur la précocité de floraison et le grossissement du nouveau cormus. *Ann. Amélior. Plantes*, **18**, 287-302.
- GINZBURG C., ZIV M., 1973. Hormonal regulation of cormel formation in Gladiolus stolons grown *in vitro*. *Ann. Bot.*, **37**, 219-224.
- HOUGHLAND G. V. C., 1950. An improved technique for growing potatoes in solution cultures. *Amer. Potato J.*, **27**, 257-262.
- IMANISHI H., SASAKI K., OE M., 1970. Further studies on the cormel formation in Gladiolus. *Bull. Univ. Osaka Prefect.*, sér. B, **22**, 7-17.

- JOLIVET E., 1969. Physiologie de la tubérisation. *Ann. Physiol. vég.*, **11**, 265-301.
- KOSUGI K., 1962. Studies on production and flowering in *Gladiolus*. *Mem. Fac. Agric. Kagawa Univ.*, **11**, 1-69.
- MADEC P., PERENNEC P., 1959. Le rôle respectif du feuillage et du tubercule-mère dans la tubérisation de la Pomme de terre. *Europ. Potato J.*, **2**, 22-49.
-

EFFET DE L'APPARENTEMENT SUR LA PRODUCTION DE GRAINES EN CROISEMENT CHEZ LA LUZERNE (*MEDICAGO SATIVA* L.)

Yvette DATTÉE

Laboratoire de Zoologie,
École normale supérieure,
46, rue d'Ulm,
75230 Paris Cedex 05

RÉSUMÉ

Deux groupes de luzernes sont utilisés pour comparer la fréquence de formation des gousses et le nombre de graines par gousse en autofécondation, en croisement frère-sœur et en croisement avec un témoin. L'étude des performances individuelles montre que pour la fréquence de formation des gousses, les croisements frère-sœur se rapprochent davantage des croisements avec les témoins que des autofécondations. Un effet de l'apparement se manifeste pour le nombre moyen de graines par gousse, les performances des croisements consanguins étant inférieures aux performances des croisements avec les témoins. Par conséquent, plus le pollen qu'il reçoit est différent de son propre génotype, plus un individu possède une forte aptitude à produire des graines.

L'étude des relations entre l'effet de l'apparement et la production de graines en croisement montre que les divers types de pollen se différencient d'autant mieux que le parent femelle est meilleur producteur de graines.

INTRODUCTION

La Luzerne cultivée (*Medicago sativa*) présente en autofécondation une grande variabilité d'origine génétique pour la fréquence de formation des gousses, tandis que le nombre de graines par gousse est relativement constant quelles que soient les familles. En croisement, au contraire, la fréquence de formation des gousses, toujours très élevée, présente des variations qui paraissent dues au hasard alors que le nombre de graines par gousse permet de différencier soit les familles, soit les divers types de pollen croisés avec une même famille.

Une étude a été entreprise dans le but de comparer les performances d'un même individu en autofécondation, en croisement avec un individu frère et en croisement avec un individu étranger utilisé comme témoin.

En croisement frère-sœur, l'allopollen a une constitution génétique voisine de celle de l'autopollen, c'est pourquoi il a paru intéressant de chercher à savoir si le résultat d'un tel croisement se rapproche d'une autofécondation ou, au contraire, s'il est comparable à un croisement avec du pollen étranger.

Diverses études ont été menées, en particulier par BUSBICE (1968), AYCOCK et WILSIE (1967), DESSUREAUX et GALLAIS (1971), pour rechercher l'effet de la consanguinité sur la fertilité chez la Luzerne. BUSBICE, de même que AYCOCK et WILSIE utilisent comme indice de fertilité le nombre moyen de graines par fleur déclenchée tandis que DESSUREAUX et GALLAIS mesurent le nombre moyen de graines par gousse. Les auteurs ont montré que la fertilité diminue avec la consanguinité, les réponses étant variables selon les familles utilisées. Le problème posé ici est différent dans la mesure où les comparaisons sont faites pour chaque individu entre les résultats des autofécondations, les résultats des croisements entre frères et les résultats des croisements entre non apparentés au lieu de porter sur les performances des familles à des niveaux de consanguinité différents.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

L'effet de l'apparement ne s'exprimant pas obligatoirement de la même façon selon l'autofertilité de la famille d'une part ni, d'autre part, selon son aptitude à produire des graines en croisement, deux groupes de 7 familles chacun ont été constitués de la façon suivante : les familles d'un même groupe ont en commun leur parent femelle, elles sont donc demi-sœurs, le parent mâle de chaque famille n'est pas apparenté au parent femelle, ni aux six autres parents mâles des familles du même groupe.

Les 7 parents mâles avaient subi de 2 à 4 générations d'autofécondation et présentaient des autofertilités variées. L'autofertilité étant un caractère héritable, les 7 familles de chaque groupe doivent présenter ainsi des autofertilités différentes. Toutefois, la variabilité intrafamille de l'autofertilité étant très élevée (DATTEE, 1972), il n'est pas surprenant que les performances des différents individus d'une même famille se soient fréquemment révélées hétérogènes.

Afin que les deux groupes présentent des différences quant à la production de graines en croisements, le parent femelle des familles du groupe I (issu de 2 générations d'autofécondation), a été choisi pour sa faible production de graines en croisement. Le parent femelle des familles du groupe II (issu de 4 générations d'autofécondation) a été choisi, au contraire, pour sa forte aptitude à produire des graines en croisement.

Un tel mode de constitution des groupes et des familles permet, de plus, d'éliminer en grande partie les différences de consanguinité entre les familles.

Chaque famille comprend 6 individus dont trois sont utilisés comme mâles, les trois autres comme femelles. Tous les individus femelles sont autofécondés, croisés avec un de leurs frères et avec un témoin. Les 42 témoins sont ici des individus pris au hasard dans une variété de luzerne.

Les plantes ont été cultivées en conditions artificielles décrites par DEMARLY et CHESNEAUX (1966), toutes dans un même bac de culture. L'expérience a été réalisée rapidement, donc dans des conditions de température et d'hygrométrie relativement homogènes. Les variations de milieu dont les effets sur tous les caractères de fertilité sont importants, paraissent alors relativement négligeables.

L'autofertilité de chaque individu est mesurée par la fréquence de formation des gousses à partir d'environ 50 fleurs autofécondées. Les fréquences de formation des gousses dans les deux types de croisements sont obtenues à partir d'au minimum 30 fleurs croisées sans castration.

Parmi l'ensemble des gousses d'autofécondation de chaque plante, 10 gousses sont prises au hasard et écosées simultanément ; le nombre moyen de graines par gousse est ensuite estimé. Les performances des individus ayant fourni moins de 10 gousses en autofécondation ne sont pas calculées, les estimations étant dans ce cas jugées sans valeur.

Pour chaque croisement, le nombre moyen de graines par gousse est obtenu à partir de 20 gousses prises au hasard parmi l'ensemble des gousses du croisement, toutefois 8 valeurs sur les 84 ont dû être estimées à partir de moins de 20 gousses. Les estimations des moyennes du nombre de

graines par gousse en autofécondation et en croisement sont obtenues à partir d'effectifs inégaux afin de compenser les différences de variabilité. En effet le nombre de graines par gousse est toujours plus variable en croisement qu'en autofécondation.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

L'ensemble des résultats obtenus est porté sur le tableau 1.

ÉTUDE DE LA FRÉQUENCE DE FORMATION DES GOUSSES

Pour chaque individu du groupe I et du groupe II, la fréquence de formation des gousses en autofécondation est très nettement inférieure à la fréquence de formation des gousses en croisement avec un frère (tabl. 1).

La comparaison de la fréquence de formation des gousses en autofécondation, en croisement avec un frère et en croisement avec un témoin a été faite, pour chaque groupe, par une analyse de variance à deux facteurs (modèle fixe) après avoir transformé les données en $\text{Arc sin } \sqrt{\cdot}$. L'inégalité des variances des variables transformées, résultant de l'inégalité des nombres de fleurs déclenchées dans les divers types de fécondations a été jugée suffisamment faible pour ne pas être prise en compte.

Les résultats des analyses de variance sont portés sur les tableaux 2 et 3.

Dans le groupe I, comme dans le groupe II, les interactions familles $\times$ types de fécondations ne sont pas significatives, les carrés moyens correspondants ont donc été ajoutés aux carrés moyens résiduels afin d'obtenir, dans les deux cas, une estimation de la variance résiduelle avec 54 d.d.l.

Pour le groupe I, l'effet famille et l'effet type de croisement sont hautement significatifs.

La comparaison des 7 familles, effectuée sur les données transformées selon la méthode de Scheffé avec un risque $\alpha = 0,05$, permet le classement suivant :

2	4	3	1	5	6	7

Les numéros des familles dont les performances ne diffèrent pas de façon significative sont réunis par un trait horizontal.

Dans l'ensemble des types de fécondations, la famille 2 présente une fréquence moyenne de formation des gousses inférieure à celles des familles 5, 6 et 7, la famille 4 présente des performances inférieures à celles de la famille 7.

La comparaison des trois types de fécondations, effectuée selon la même méthode met en évidence une différence significative entre la fréquence moyenne de formation de gousses en autofécondation (0,32) et la fréquence moyenne de formation des gousses en croisements. Les moyennes des croisements consanguins (0,70) et des croisements entre non apparentés (0,79) ne diffèrent pas de façon significative.

Dans le groupe II, l'effet famille est significatif à 5 p. 100 mais la méthode de Scheffé ne permet pas de mettre en évidence des différences significatives entre les moyennes de familles. L'effet type de croisement est significatif à 1 p. 100. La compa-

TABLEAU I

Effet de l'apparement sur la fréquence de formation des gousses et le nombre de graines par gousse. Ensemble des résultats individuels

28

Y. DAYÉE

Familles	Groupe I						Groupe II					
	Fréquences de formation des gousses			Nombres moyens de graines par gousse			Fréquences de formation des gousses			Nombres moyens de graines par gousse		
	A	× ♂ F	× ♂ T	A	× ♂ T	× ♂ T	A	× ♂ F	× ♂ T	A	× ♂ F	× ♂ T
1	0,19	0,58	0,55	—	1,75	1,65	0,18	0,86	0,91	1,90	2,85	3,50
	0,30	0,89	0,64	1,10	2,30	2,70	0,21	0,40	0,73	1,20	2,12	3,90
	0,49	0,84	0,82	1,50	2,30	2,60	0,44	0,76	0,91	2,00	2,85	5,20
2	0,19	0,54	0,93	1,10	1,55	4,35	0,09	0,76	0,73	—	2,40	4,80
	0,05	0,68	0,63	—	1,45	1,80	0,07	0,46	0,78	—	1,74	2,85
	0,00	0,13	0,37	—	1,57	2,13	0,29	0,59	0,51	1,60	2,15	1,74
3	0,23	0,66	0,92	1,10	3,30	3,20	0,65	0,75	1,00	2,10	3,70	4,60
	0,00	0,34	0,35	—	1,36	1,11	0,24	0,73	0,69	1,30	1,85	2,55
	0,54	0,83	1,00	2,00	3,75	4,95	0,38	0,89	0,80	2,20	3,50	4,25
4	0,41	0,97	0,91	1,90	4,15	6,20	0,46	0,74	0,94	1,90	1,50	3,35
	0,00	0,38	0,18	—	1,28	1,10	0,22	0,43	1,00	2,60	2,30	7,25
	0,05	0,51	0,97	—	2,55	4,95	0,61	0,69	0,97	1,90	1,75	6,40
5	0,31	1,00	0,97	2,00	3,75	4,55	0,39	0,94	0,94	2,40	5,25	8,10
	0,26	0,84	0,97	1,50	2,80	4,00	0,62	1,00	0,97	3,30	7,10	6,90
	0,42	0,91	0,88	2,20	4,25	5,70	0,00	0,73	0,97	—	3,70	4,00
6	0,69	0,91	1,00	1,80	3,15	4,40	0,56	0,92	1,00	2,50	4,25	4,45
	0,53	0,84	0,97	2,20	3,15	4,15	0,37	0,78	0,88	1,10	2,45	4,50
	0,55	0,88	0,94	2,50	3,70	5,30	0,41	0,82	0,94	1,80	1,95	5,35
7	0,41	0,86	1,00	1,90	3,40	4,05	0,20	0,74	0,95	1,90	3,40	8,60
	0,61	0,76	1,00	1,90	2,20	3,75	0,13	0,33	0,85	—	1,60	2,45
	0,67	1,00	0,95	3,00	2,90	4,45	0,49	0,97	0,97	1,60	2,75	4,45
$\bar{x}$	0,32	0,70	0,79	1,85	2,70	3,67	0,32	0,71	0,88	1,96	2,91	4,72

A : autofécondation ; × ♂ F : croisement avec un frère ; × ♂ T : croisement avec un témoin $\bar{x}$: moyennes des familles

TABLEAU 2

Étude des fréquences de formation des gousses :
Résultats de l'analyse de variance testant les différences entre familles,
entre types de fécondations et les interactions familles × types de fécondations
 (groupe I)

Sources de variation	Sommes des carrés	d.d.l.	Carrés moyens	F
Totale	40 539,07	62	653,86	
Familles	9 856,71	6	1 642,78	6,59**
Types de fécondations	17 224,91	2	8 612,46	34,56**
Interaction familles × types de fécondations.....	1 430,94	12	119,24	NS
Résiduelle ₁	12 026,51	42	286,35	
Résiduelle ₂	13 457,45	54	249,21	

N. B. : L'estimation de la variance résiduelle₂ est obtenue en regroupant les sommes de carrés de l'interaction et résiduelle₁. Les tests sont faits par rapport à la résiduelle₂.

** : significatif à 1 p. 100 ;

NS : non significatif.

TABLEAU 3

Étude des fréquences de formation des gousses :
Résultats de l'analyse de variance testant les différences entre familles,
entre types de fécondations et les interactions familles × types de fécondations
 (Groupe II)

Sources de variation	Sommes des carrés	d.d.l.	Carrés moyens	F
Totale	29 817,38	62	480,92	
Familles	2 817,88	6	469,65	2,67*
Types de fécondations	17 507,99	2	8 753,99	49,80**
Interaction familles × types de fécondations.....	1 629,52	12	135,79	NS
Résiduelle ₁	7 862	42	187,19	
Résiduelle ₂	9 491,52	54	175,77	

N. B. : L'estimation de la variance résiduelle₂ est obtenue en regroupant les sommes de carrés de l'interaction et résiduelle₁. Les tests sont faits par rapport à la résiduelle₂.

* : significatif à 5 p. 100 ;

** : significatif à 1 p. 100 ;

NS : non significatif.

raison des trois types de fécondation montre que la fréquence moyenne de formation des gousses en autofécondation (0,32) est inférieure à la fréquence moyenne de formation des gousses en croisements et que la moyenne des croisements frères-sœurs (0,71) est inférieure à la moyenne des croisements avec un témoin (0,88).

Il semble que dans le groupe II, d'un niveau moyen de fertilité plus élevé, se traduisant ici par une fréquence de formation des gousses en présence d'un témoin supérieure à celle qui est observée dans le groupe I, le pollen étranger améliore la production de gousses. Toutefois, les différences entre les fréquences de formation des gousses en croisements consanguins et en croisements entre non apparentés sont peu marquées tandis que les différences entre les autofécondations et les croisements consanguins sont toujours très élevées.

ÉTUDE DU NOMBRE DE GRAINES PAR GOUSSE

Les gousses issues d'autofécondations sont très petites et se différencient toujours très nettement des gousses issues de croisements qu'ils soient consanguins ou non. Les différences de taille et du nombre de tours de spires entre les gousses issues de croisements consanguins et les gousses issues de croisements entre non apparentés sont fréquemment perceptibles à l'œil nu (fig. 1 et 2).

La comparaison du nombre moyen de graines par gousse en autofécondation et en croisement avec un frère a été faite en utilisant comme variable pour chaque individu la différence entre les deux moyennes. Les résultats des autofécondations n'étaient pas suffisamment nombreux pour permettre de tester une éventuelle différence entre les familles. Tous les résultats d'un même groupe ont donc été étudiés ensemble. Dans le groupe I la moyenne des différences entre les croisements frère-sœur et les autofécondations est égale à 1,20 graines par gousse, dans le groupe II, elle est égale à 1,07. Ces deux valeurs ne sont pas significativement différentes entre elles. L'estimation globale de la différence entre les croisements consanguins et les autofécondations est égale à $1,13 \pm 0,33$ graines par gousse au niveau 5 p. 100.

La comparaison des nombres moyens de graines par gousse dans les croisements frère-sœur et dans les croisements entre non apparentés a été faite à partir des différences individuelles entre les deux types de croisements. Préalablement, l'égalité entre les familles a été vérifiée par une analyse de variance dans chaque groupe (tabl. 4 et 5). Les valeurs de F obtenues ne sont pas significatives. L'effet de l'apparementement apparaît donc ici équivalent dans toutes les familles.

Les estimations des moyennes des différences entre les croisements avec les témoins et les croisements frère-sœur sont de $0,98 \pm 0,39$ graines par gousse dans le groupe I et de $1,81 \pm 0,71$ graines par gousse dans le groupe II au niveau 5 p. 100. Bien que les intervalles de confiance se recouvrent partiellement, ces deux valeurs diffèrent de façon significative au seuil de 5 p. 100. Les croisements frère-sœur produisent moins de graines par gousse que les croisements entre non apparentés. L'effet de l'apparementement représente 27 p. 100 de la valeur des croisements avec les témoins dans le groupe I et 38 p. 100 dans le groupe II, cet effet est donc relativement important.



FIG. 1. — Photographies de gousses obtenues sur une plante de la famille 6 du groupe II
 A gauche se trouvent les produits des croisements frère-sœur,
 à droite, les produits des croisements avec le témoin
 (Cliché Memin)



FIG. 2. — Photographies de gousses obtenues sur une plante de la famille 7 du groupe II
 A gauche se trouvent les produits des croisements frère-sœur,
 à droite les produits des croisements avec le témoin
 (Cliché Memin)

TABLEAU 4

Étude des différences entre les nombres moyens de graines par gousse dans les croisements entre non apparentés et dans les croisements entre apparentés
Résultats de l'analyse de variance testant les différences entre familles
 (Groupe I)

Sources de variation	Sommes des carrés	d.d.l.	Carrés moyens	F
Totale	14,60	20	7,30	1,08 NS
Famille	4,65	6	0,77	
Résiduelle	9,95	14	0,71	

NS : non significatif.

TABLEAU 5

Étude des différences entre les nombres moyens de graines par gousse dans les croisements entre non apparentés et dans les croisements entre apparentés
Résultats de l'analyse de variance testant les différences entre familles
 (Groupe II)

Sources de variation	Sommes des carrés	d.d.l.	Carrés moyens	F
Totale	53,50	20	2,67	1,51 NS
Famille	21,06	6	3,51	
Résiduelle	32,44	14	2,32	

NS : non significatif.

Les moyennes du nombre de graines par gousse en présence des témoins étant de 3,67 dans le groupe I et de 4,72 dans le groupe II, il semble que l'effet de l'apparement soit d'autant plus élevé que la production du croisement est meilleure. C'est pourquoi, dans chaque groupe, la corrélation entre les différences des nombres moyens de graines par gousse dans les deux types de croisements et les nombres moyens de graines par gousse en présence des témoins a été calculée. Les deux valeurs obtenues : 0,80 pour le groupe I et 0,69 pour le groupe II, chacune avec 19 d.d.l., ne sont pas différentes au seuil de 5 p. 100. L'estimation moyenne égale à 0,75, admet l'intervalle de confiance 0,57-0,86 au niveau 5 p. 100 et 0,49-0,88 au niveau 1 p. 100.

Il existe donc une corrélation hautement significative entre la production de graines en présence d'un témoin et l'effet de l'apparement dans le croisement.

Les estimations des pentes des droites de régression de l'effet de l'apparement sur la production de graines en présence d'un témoin sont de 0,46 pour le groupe I et de 0,61 pour le groupe II. Ces valeurs diffèrent de 0 de façon significative mais ne diffèrent pas entre elles au seuil de 5 p. 100 (le test a été effectué en tenant compte de l'inégalité des variances des pentes des droites de régression). L'estimation moyenne, obtenue en pondérant chaque valeur par l'inverse de sa variance, est de 0,49. Par conséquent, si la production de graines en présence d'un témoin augmente d'une unité, l'effet de l'apparement augmente en moyenne de 0,49.

Ainsi se trouve expliqué l'effet de l'apparement plus élevé dans le groupe II.

DISCUSSION

L'étude de la fréquence de formation des gousses a montré que, pour ce caractère, les croisements entre apparentés se rapprochent davantage des croisements entre non apparentés que des autofécondations. Il est possible qu'en utilisant des familles consanguines les résultats obtenus aient été différents. En effet, les génotypes de deux individus frères auraient été plus voisins ; en revanche, le niveau de fertilité généralement faible des individus consanguins risquait de masquer les autres effets.

La présence d'une gousse est un phénomène secondaire dû à la maturation d'une graine au minimum. Une autofécondation, dans beaucoup de cas, n'aboutit pas à la maturation d'au moins une graine, soit parce que l'autopollen ne croît pas suffisamment pour assurer la fécondation des ovules, soit également parce que les quelques ovules fécondés avortent avant la maturation de la graine ainsi que l'ont montré SAYERS et MURPHY (1966). Dans le cas des croisements consanguins, la fécondation et la maturation d'au moins une graine aboutissent bien plus fréquemment. Étant données les différences entre les fréquences de formation des gousses en croisements consanguins et en autofécondations, les différences entre les nombres moyens de graines par gousse ne sont pas surprenantes.

En revanche, les différences entre les nombres moyens de graines par gousse dans les croisements entre individus apparentés et dans les croisements entre non apparentés n'étaient pas prévisibles dès l'analyse des fréquences de formation des gousses. Deux hypothèses peuvent être faites pour expliquer cet effet de l'apparement. Il est possible que le pollen d'un individu germe mal sur un style apparenté et féconde moins d'ovules, le phénomène observé serait alors voisin de celui qui se manifeste lors d'une autofécondation. Il est également possible que des ovules fécondés par du pollen apparenté avortent plus fréquemment, l'effet de l'apparement serait alors une dépression due à la consanguinité au niveau du produit du croisement, dépression qui se manifesterait dans les premiers stades du développement des embryons. L'expérience qui vient d'être décrite ne permet pas de trancher entre ces deux hypothèses, il est possible que les deux phénomènes interviennent lorsque des croisements entre apparentés sont effectués.

BUSBICE (déjà cité) étudiant l'effet de la consanguinité sur la fertilité chez la luzerne a trouvé une influence importante de la consanguinité de l'embryon sur la production de graines ; DESSUREAUX et GALLAIS (déjà cités) pensent au contraire que l'influence de la consanguinité de la plante mère est prépondérante.

Les valeurs élevées des fréquences de formation des gousses en croisements consanguins paraissent ici un argument en faveur de l'hypothèse de l'avortement des embryons après fécondation, donc d'un effet important de la consanguinité du produit. Toutefois, cet effet n'exclut pas l'influence de la consanguinité de la plante mère, influence qui n'a pas été envisagée dans cette étude.

A un niveau de consanguinité donné, une liaison positive a été mise en évidence entre le nombre de graines par gousse en présence d'un témoin et l'effet de l'apparement. Plus l'aptitude d'un individu à produire des graines est élevée, plus s'expriment les différences entre les divers types de pollen. Des résultats comparables avaient déjà été obtenus (DATTÉE, 1972). Il semble donc que les effets des parents mâles des croisements sont d'autant plus différents entre eux que la fertilité des plantes femelles est plus élevée.

CONCLUSION

Il importe d'envisager en conclusion l'effet de l'apparement sur l'évolution des populations. La panmixie suppose tous les croisements équiprobables, y compris les croisements frère-sœur. Or, si ceux-ci laissent moins de descendants que les croisements entre non apparementés, il en résulte obligatoirement une sélection en faveur des croisements entre non apparementés. Cette sélection n'est pas négligeable dans le cas qui vient d'être décrit et elle peut avoir une influence sur l'évolution des variétés synthétiques. En effet, lors des cycles de reproduction panmictique qui se produisent au cours de la création des variétés synthétiques, les descendants des croisements entre individus d'une même famille sont moins nombreux que les descendants des croisements entre individus étrangers ; le niveau d'hétérozygotie moyen de la population ainsi obtenue doit être plus élevé que ce qui est attendu en l'absence d'un tel type de sélection.

Dans les populations naturelles comme dans les variétés cultivées, l'effet de l'apparement s'ajoute aux autres mécanismes qui favorisent la reproduction allogame.

Reçu pour publication en novembre 1973.

SUMMARY

CONSANGUINITY EFFECT ON PODS AND SEEDS PRODUCTION IN LUCERNE (*MEDICAGO SATIVA* L.)

Two lucernes series are used for a comparative study of self-, sib- and cross fertilization. Frequency of flowers producing pods and mean number of seeds per pod are used as indexes.

Large individual differences appear between frequencies of flowers producing pods after sib mating and after self fertilization while differences between sib and cross mating performances are not so important.

Comparisons of numbers of seeds per pod obtained by self-pollination and by sib-pollination show that products of sib-pollination exceed products of self-fecundation of about 1,13 seeds per pod.

The differences between mean number of seeds per pod after cross-fertilization and after sib-fertilization amount to 0,98 seed per pod in series I and 1,81 seeds per pod in series II.

No differences between families appear within each series.

There is a significant correlation between the consanguinity effect and the mean number of seeds per pod in cross pollination. Such a correlation shows that differences between various kinds of pollen are more important when crosses are made with a productive plant.

As evolution of populations is concerned, consanguinity effect on seeds production introduces a selection which advantages cross pollinations descents.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AYCOCK M. K. JR, WILSIE C. P., 1967. Inbreeding *Medicago sativa* L. by sib mating. I. Cross-sib-and self-fertility. *Crop Sci.*, **7**, 281-284.
- BUSBICE T. H., 1968. Effects of inbreeding on fertility in *Medicago sativa* L. *Crop Sci.*, **8**, 231-234.
- DATTÉE Y., 1972. Analyse quantitative de l'auto- et de l'interfertilité chez quelques familles de Luzerne *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, 1, 5-21.
- DEMARLY Y., CHESNEAUX M. T., 1966. La culture de la Luzerne en conditions artificielles. *Ann. Amélior. Plantes*, **16**, 3, 299-305.
- DESSUREAUX L., GALLAIS A., 1971. Evolution of fertility in advanced generations of an Alfalfa single cross hybrid. *Can. J. Genet. Cytol.*, **13**, 834-841.
- SAYERS E. R., MURPHY R. P., 1966. Seed set in Alfalfa as related to pollen tube growth, fertilization frequency, and post-fertilization ovule abortion. *Crop Sci.*, **6**, 365-368.
-

INFLUENCE DES INTERACTIONS ENTRE LES GÉNOTYPES PARENTAUX SUR LA PRODUCTION DE GRAINES CHEZ LA LUZERNE (*MEDICAGO SATIVA* L.)

Yvette DATTÉE

*Laboratoire de Zoologie,
École Normale supérieure,
46, rue d'Ulm,
75230 Paris Cedex 05*

RÉSUMÉ

Une analyse statistique a permis d'étudier l'influence des interactions entre les génotypes parentaux sur le nombre moyen de graines par gousse en croisement chez la Luzerne. Les résultats de l'analyse de variance ont montré qu'il existe des aptitudes particulières au croisement significatives alors que les interactions liées à deux croisements réciproques sont équivalentes. L'interprétation biologique de ces résultats permet de conclure que les interactions entre les génotypes parentaux se situent au niveau de l'embryon. Les interactions liées à des rôles dissymétriques des deux parents au cours de la fécondation ou de la maturation de la graine semblent nulles ou peu importantes.

INTRODUCTION

Une étude de l'interfertilité chez la Luzerne cultivée (DATTÉE, 1972 a) a montré que la production de graines d'un croisement dépend à la fois du parent femelle et du parent mâle, l'effet du parent femelle étant prépondérant, mais aucune information n'avait été apportée sur les interactions entre les génotypes des deux parents.

L'existence d'une répétition de l'expérience permet maintenant d'étudier ces interactions et d'en proposer une interprétation biologique.

MATÉRIEL, ET TECHNIQUE

La description du matériel végétal et des techniques d'études ont été faites dans un article précédent (DATTÉE, 1972 a).

Les 8 plantes initiales ont été bouturées afin d'éliminer la variabilité génétique intra famille, les boutures ont été réparties en deux blocs. Dans chaque répétition, l'ensemble des 56 croisements possibles a été réalisé et le nombre moyen de graines par gousse a été estimé pour chaque croisement.

Le modèle mathématique adopté est celui qui est couramment utilisé dans les études de compétition (CHALBI, 1969 ; GALLAIS, 1970). Il est analogue à un modèle d'analyse diallèle (GRIF-FING, 1956) mais l'interprétation des paramètres diffère de façon fondamentale puisque les mesures portent sur les plantes elles-mêmes et non pas sur leur descendance.

Le nombre moyen de graines par gousse issues du croisement entre la ♀ i et le ♂ j dans la répétition k est représenté par la variable y_{ijk} ; celle-ci peut être décomposée de la façon suivante :

$$y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_{ij} + c_k + e_{ijk}$$

- où μ est la moyenne générale ;
 α_i est l'effet du parent femelle i ;
 β_j est l'effet du parent mâle j ;
 γ_{ij} est l'interaction parent femelle $i \times$ parent mâle j ;
 c_k est l'effet répétition ;
 e_{ijk} est une variable aléatoire.

L'analyse porte sur les sommes et les différences :

$$\frac{1}{2} (y_{ij.} + y_{ji.}) = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + t_{ij}.$$

$$\frac{1}{2} (y_{ij.} - y_{ji.}) = c_i - c_j + d_{ij} + u_{ij}.$$

- où $y_{ij.}$ est la moyenne des deux répétitions du croisement femelle $i \times$ mâle j ;
 $g_i = \frac{1}{2} (\alpha_i + \beta_i)$ est l'aptitude générale du parent i ;
 $c_i = \frac{1}{2} (\alpha_i - \beta_i)$ est l'effet différentiel du parent i ;
 $s_{ij} = s_{ji} = \frac{1}{2} (\gamma_{ij} + \gamma_{ji})$ est l'aptitude particulière au croisement ij ;
 $d_{ij} = -d_{ji} = \frac{1}{2} (\gamma_{ij} - \gamma_{ji})$ est l'effet différentiel particulier du croisement ij ;
 t_{ij} , et u_{ij} , sont des variables aléatoires.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Les nombres moyens de graines par gousse ($y_{ij.}$) sont portés sur le tableau 1. Les résultats de l'analyse (tabl. 2) montrent l'existence d'aptitudes générales (g_i) et d'effets différentiels (c_i) hautement significatifs. Les aptitudes particulières au croisement (s_{ij}) sont significatives à 5 p. 100, les effets différentiels particuliers (d_{ij}) de même que l'effet répétition ne sont pas significatifs.

TABLEAU I

Nombre moyen de graines par gousse en croisement : moyenne des deux blocs

♂ n°	♀ n°							
	3	4	6	7	8	9	10	11
3		2,75	2,28	3,26	5,12	7,86	3,29	3,10
4	2,95		2,90	2,65	6,08	8,31	3,23	3,44
6	3,38	3,13		3,53	6,70	8,28	3,69	4,05
7	2,83	2,39	2,98		5,39	5,14	3,27	3,52
8	3,52	3,71	3,64	3,87		9,22	3,29	3,80
9	3,83	4,32	3,50	3,08	7,78		3,25	4,08
10	3,27	3,57	3,47	2,66	6,10	8,09		3,23
11	2,79	3,34	3,28	3,16	6,08	7,93	3,20	

N. B. : Les plantes utilisées portent les mêmes numéros que dans l'article précédent (DATTEE, 1972 a) où ont été discutées les significations biologiques des effets mâles et femelles afin que les comparaisons des performances soient possibles.

TABLEAU 2

Nombre moyen de graines par gousse en croisement : résultats de l'analyse de variance

Source de variation	d.d.l.	Somme des carrés	Carré moyen	F
Aptitude générale	7	200	28,57	73,10**
Aptitude particulière au croisement	20	16,81	0,84	2,15*
Répétition	1	0,17	0,17	NS
Résiduelle	27	10,55	0,39	
Effet différentiel	7	129,29	18,47	34,85**
Effet différentiel parti- culier	21	6,03	0,29	NS
Résiduelle	28	14,73	0,53	

NS : non significatif.

* : significatif à 5 p. 100.

** : significatif à 1 p. 100.

L'interprétation des effets mâles (β_j) et des effets femelles (α_i) ayant déjà été formulée (DATTEE, 1972 a), la discussion portera essentiellement, ici, sur la signification biologique des interactions (γ_{ij}) dont les estimations sont portées sur le tableau 3.

TABLEAU 3

*Nombre moyen de graines par gousse en croisement :
estimations des interactions entre parent femelle et parent mâle (γ_{ij})*

δ n°	φ n°							
	3	4	6	7	8	9	10	11
3		— 0,10	— 0,29	0,51	— 0,42	0,23	0,26	— 0,19
4			— 0,32	0,22	— 0,06	0,49	0,17	0,04
6				0,34	0,04	— 0,08	0,17	0,14
7					0,10	— 1,29	0,15	0,41
8						0,88	— 0,33	— 0,20
9							— 0,22	0,00
10								— 0,20
11								

DISCUSSION

Après que la pollinisation ait été effectuée, la production de graines devient la résultante de plusieurs phénomènes susceptibles d'être décomposés en deux phases successives : d'une part, la croissance pollinique dans les tissus femelles, qui aboutit ou non à la fécondation d'un certain nombre d'ovules, d'autre part, le développement des ovules fécondés qui aboutit ou non à la formation des graines.

Les interactions entre les génotypes parentaux peuvent se manifester aussi bien au niveau de la croissance pollinique : interaction entre le style et le gamétophyte mâle qu'au niveau de la formation et du développement de l'embryon : interaction au niveau de l'albumen, interaction entre le cytoplasme de l'oosphère et le noyau du spermatozoïde, interaction entre le noyau de l'oosphère et le noyau du gamète mâle. La localisation de ces diverses interactions se trouve schématisée sur la figure 1. Il convient d'ajouter l'interaction entre le génotype femelle et le génotype de l'embryon, susceptible de se produire au cours de la maturation de la graine.

Or, parmi ces interactions, une seule : l'interaction entre le noyau de l'oosphère et le noyau du gamète mâle, fait jouer un rôle symétrique aux deux parents d'un même croisement. Toutes les autres interactions impliquent un rôle dissymétrique du parent mâle et du parent femelle.

S'il existait des interactions faisant intervenir les deux parents de façon dissymétrique, elles se traduiraient au niveau de l'analyse de variance par des différences significatives entre les valeurs des interactions de deux croisements réciproques (γ_{ij} et γ_{ji}).

Or l'analyse statistique a montré qu'il n'existe pas d'effets différentiels particuliers (d_{ij}). Comme ces effets différentiels particuliers représentent les différences $\gamma_{ij}-\gamma_{ji}$, il semble donc que, pour la production de graines, il n'y ait pas d'interaction entre les génotypes parentaux au niveau de la croissance pollinique, au niveau de l'albumen, au niveau du cytoplasme du parent femelle et du noyau du parent mâle ni, au cours de la maturation de la graine, entre le génotype femelle et le génotype de l'embryon.

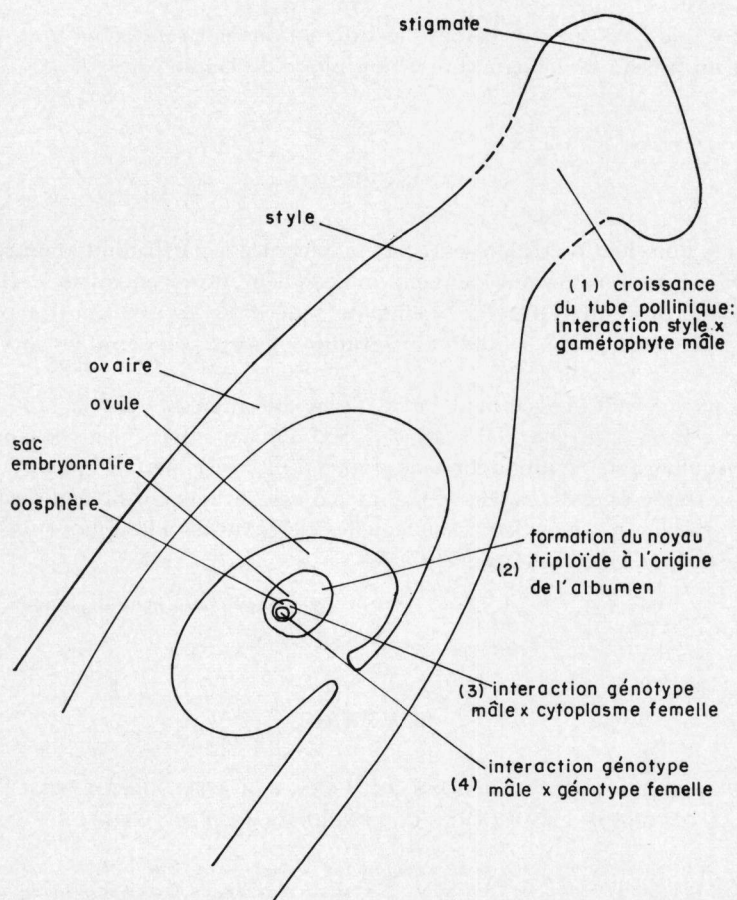


FIG. 1. — Coupe schématique d'une fraction de carpelle : localisation des diverses interactions possibles entre le parent mâle et le parent femelle d'un croisement

Un autre argument en faveur de l'absence d'interaction entre le style et les tubes polliniques a été obtenu à partir des performances des descendants (DATTEE, 1972 a). L'étude de l'autofertilité de la F_1 a montré en effet que les individus issus de croisements réciproques ne présentent pas de différences pour ce caractère. Il en est de même pour l'étude du nombre d'ovules par ovaire (DATTEE, 1972 b). Or, si des interactions se produisaient entre le style et le pollen, elles aboutiraient à la constitution de descendance de structures génétiques différentes selon le sens du croisement.

En revanche, dans l'hypothèse d'absence d'interaction au niveau de la croissance pollinique, les compositions génotypiques des gamètes mâles et femelles de deux croisements réciproques sont identiques et il en est de même des compositions génotypiques des œufs formés par la réunion de ces gamètes.

L'interaction (γ_{ij}) entre un parent femelle i et un parent mâle j est donc telle que $\gamma_{ij} = \gamma_{ji}$. L'analyse précédente a révélé également des aptitudes particulières au croisement : $s_{ij} = \frac{1}{2} (\gamma_{ij} + \gamma_{ji})$ significatives, il paraît par conséquent possible de conclure que dans un croisement, les interactions entre les génotypes parentaux se situent au niveau de la structure génotypique de l'embryon.

CONCLUSION

L'étude qui vient d'être présentée a été effectuée à partir d'un nombre restreint d'individus et les conclusions peuvent difficilement être généralisées. Il convient toutefois, de noter que l'absence d'effet de répétition prouve que les paramètres estimés caractérisent bien les individus étudiés et sont peu sensibles aux effets du milieu.

A propos d'études concernant l'effet de la consanguinité sur la production des croisements (BUSBICE, 1968 ; DATTEÉ, 1974), il a été montré que la consanguinité de l'embryon influençait la production de graines d'un croisement. Il semble donc que les interactions entre parent femelle et parent mâle se situent au niveau de l'embryon et que les interactions entre les tissus femelles et les tubes polliniques sont, en fécondation croisée, nulles ou peu importantes.

Reçu pour publication en novembre 1973.

SUMMARY

EFFECT OF INTERACTIONS BETWEEN PARENTAL GENOTYPES ON SEEDS PRODUCTION IN LUCERNE (*MEDICAGO SATIVA* L.)

Eight lucerne genotypes have been selected for a seeds production study. Mean number of seeds per pod is used as cross fertility index. A statistical analysis shows significant interactions γ_{ij} between female i and male j . No differences are revealed between reciprocal crosses interactions : $\gamma_{ij} = \gamma_{ji}$.

In regard to biological meaning, it seems that such interactions occur in the embryos rather than during pollen tubes growth.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BUSBICE T. H., 1968. Effects of inbreeding on fertility in *Medicago sativa* L. *Crop. Sci.*, **8**, 231-234.
CHALBI N., 1969. Contribution à l'étude des phénomènes d'interactions biologiques entre génotypes en association et leur interprétation biologique. Thèse Fac. Sci., Paris, 1969.

- DATTÉE Y., 1972 a. Analyse quantitative de l'auto- et de l'interfertilité chez quelques familles de Luzerne. *Ann. Amélior. Plantes*, **22** (1), 5-21.
- DATTÉE Y., 1972 b. Hérité quantitative du nombre d'ovules par ovaire dans quelques familles de Luzerne cultivée. (*Medicago sativa* L.). *Ann. Amélior. Plantes*, **22** (2), 201-209.
- DATTÉE Y., 1974. Effet de l'appariement sur la production de graines en croisement chez la Luzerne (*Medicago sativa* L.). *Ann. d'Amélior. plantes*, **24**, (1), 25-35.
- GALLAIS A., 1970. Modèle pour l'analyse des relations d'associations binaires. *Biométr. Praxim.*, **11**, 23, 51-80.
- GRIFFING B., 1956. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel cross systems. *Biol. Sci.*, **9**, 463-493.
-

EFFETS D'UNE MORPHACTINE SUR LA CROISSANCE ET LA BIOLOGIE FLORALE DU MELON (*CUCUMIS MELO*)

Georgette RISSER et G. AUBERT ⁽¹⁾
avec la collaboration technique de J. C. RODE

*Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,
Centre de Recherches d'Avignon, I. N. R. A.,
84140 Montfavet*

RÉSUMÉ

Une morphactine, l'ester méthylique de l'acide 2-chloro-9-hydroxyfluorène carboxylique (IT 3456) a été utilisée par pulvérisation sur feuillage, à des doses variant de 1 à 75 mg/l sur plusieurs lignées de melons (gynoïque, monoïque ou andromonoïque).

Les principaux effets observés ont été les suivants :

- jaunissement marginal, suivi de nécroses, de certaines feuilles subapicales ;
- nécrose et mort du bourgeon apical aux fortes doses ;
- réduction du nombre de nœuds de la tige principale et de leur longueur ;
- lignification intense du parenchyme ligneux et des vaisseaux du métaxylème II ;
- anomalies morphologiques du périanthe et de l'androcée des fleurs mâles,
- avortement des premières fleurs femelles et bisexuées.

Contrairement à l'effet observé sur Concombre, aucune tendance au développement parthénocarpique des fruits n'a été observée, ni sur les plantes pulvérisées ni sur des plantes où la morphactine avait été appliquée localement par badigeon de l'ovaire.

INTRODUCTION

Dans le cadre de nos études de la parthénocarpie naturelle ou provoquée chez le Melon (*Cucumis melo*) nous avons étudié l'effet sur la biologie du Melon d'une substance chimique appartenant au groupe des morphactines.

⁽¹⁾ Ce travail a été réalisé dans le cadre de la préparation d'un Diplôme d'Étude approfondie de Biologie végétale à l'Université de Provence.

En 1971, en effet, ROBINSON, CANTLIFFE et SHANNON rapportaient l'effet inducteur de parthénocarpie sur Concombre (*Cucumis sativus*) d'une morphactine d'où l'idée d'éprouver l'effet de cette même substance sur Melon.

Rappelons que les morphactines (SCHNEIDER, 1970) sont un groupe de substances de croissance synthétiques constitué par les acides 9-fluorène-carboxyliques et leurs dérivés. Ces substances agissent de façon systémique sur un très large spectre de végétaux (algues brunes, mousses, fougères, mono- et dicotylédones) et affectent de nombreux aspects de la croissance et du développement.

MÉTHODES EXPÉRIMENTALES. MATÉRIEL UTILISÉ

Produit utilisé

La morphactine utilisée (IT 3456) est l'ester méthylique de l'acide 2-chloro-9-hydroxyfluorène carboxylique. Le produit a été utilisé en solution aqueuse d'alcool éthylique (5 p. 100) ; un mouillant « Tween 80 » a été ajouté à la solution à la dose de 1 p. 100.

Modes d'application

La solution ainsi obtenue a été pulvérisée sur l'ensemble du feuillage pour les traitements A et B ; dans les traitements C, l'ovaire des fleurs épanouies a été badigeonné avec la solution.

Doses utilisées

Un essai préliminaire sur plantes en pots avait montré l'effet assez phytotoxique des doses de 100 et 200 mg/l (nécroses des jeunes feuilles et du bourgeon apical). Les doses de 25, 50 et 75 mg/l ont donc été utilisées dans l'essai I, de 1, 10 et 20 mg/l dans l'essai II.

Époques d'application

Traitements A : pulvérisation du feuillage immédiatement avant plantation (Essai I) ;

Traitements B : pulvérisation quelques jours après plantation (6 jours pour l'essai I, 7 jours pour l'essai II) ;

Traitements C : badigeon au pinceau, de l'ovaire de fleurs épanouies. Une petite pince placée au stade bouton et enserrant la corolle, empêche la pollinisation par les insectes (Essais I et II).

Matériel végétal

« Doublon » : cultivar andromonoïque de type Charentais (obtention I. N. R. A.) (Essais I et II) ;

« Monoïque » : lignée monoïque de type Charentais (sélection I. N. R. A.) (Essais I et II) ;

« Gynoïque » : lignée gynoïque, avec fleurs hypogynes, de type Charentais (sélection I. N. R. A.) (Essai I).

Conduite des plantes

Les plantes ont été observées en culture palissée sur une tige, sous serre verre chauffée dans l'essai I, sous serre plastique non chauffée dans l'essai II.

Semis : 27 décembre 1971 (Essai I),
5 mai 1972 (Essai II).

Plantation : 4 février 1972 (Essai I),
2 juin 1972 (Essai II).

Taille : les plantes n'ont subi aucune taille ni pincement jusqu'à la date du 24 février (Essai I) ou 30 juin (Essai II) où toutes les ramifications ont été mesurées. Après cette date, les plantes ont été soumises aux tailles habituelles de ce type de culture : suppressions des six premières ramifications de la base, pincement au-dessus de la deuxième feuille des autres ramifications.

Dispositif expérimental

Essai I : deux répétitions de une plante par traitement.

Essai II : quatre répétitions de une plante par traitement.

RÉSULTATS

Effets sur la croissance

Symptômes foliaires.

Divers symptômes anormaux ont été observés sur feuillage.

Les feuilles adultes présentent, quelques jours après le traitement, un enroulement marginal vers la face inférieure ; elles paraissent légèrement plus brillantes et plus sombres que les feuilles témoins. Ces symptômes ont été plus nets chez les lignées gynodioïques et monoïques que chez « Doublon ».

Les jeunes feuilles perdent leur turgescence ; les nouvelles feuilles formées sont plus petites et plus ternes que celles des témoins ; ces symptômes sont plus nets lorsque la morphactine est appliquée après plantation ; ils peuvent persister plus d'un mois après traitement.

Des jaunissements marginaux et des nécroses apparaissent sur certaines feuilles subapicales, suivis d'une nécrose et de la mort du bourgeon apical et de quelques bourgeons axillaires. Ces symptômes ne sont observés qu'aux doses les plus fortes.

Enfin chez « Doublon », on observe fréquemment la formation de vrilles à la place de feuilles.

Dans tous les cas l'importance des symptômes et leur persistance croissent avec l'intensité (aucun symptôme n'a été observé à la dose de 1 mg/l).

Tige principale.

La longueur de la tige principale a été régulièrement mesurée : la figure 1 représente la longueur moyenne des tiges pour les divers traitements du cultivar « Doublon » ; les courbes des deux autres lignées étant assez semblables n'ont pas été reportées ; le tableau 1 présente la longueur de la tige le 24 février exprimée en pourcentage de la longueur de celles des témoins, en fonction de la dose et de l'époque d'application, pour l'essai I. Comme la figure 1, ce tableau montre une influence plus grande de l'époque d'application que de la dose sur l'effet nanifiant de la morphactine.

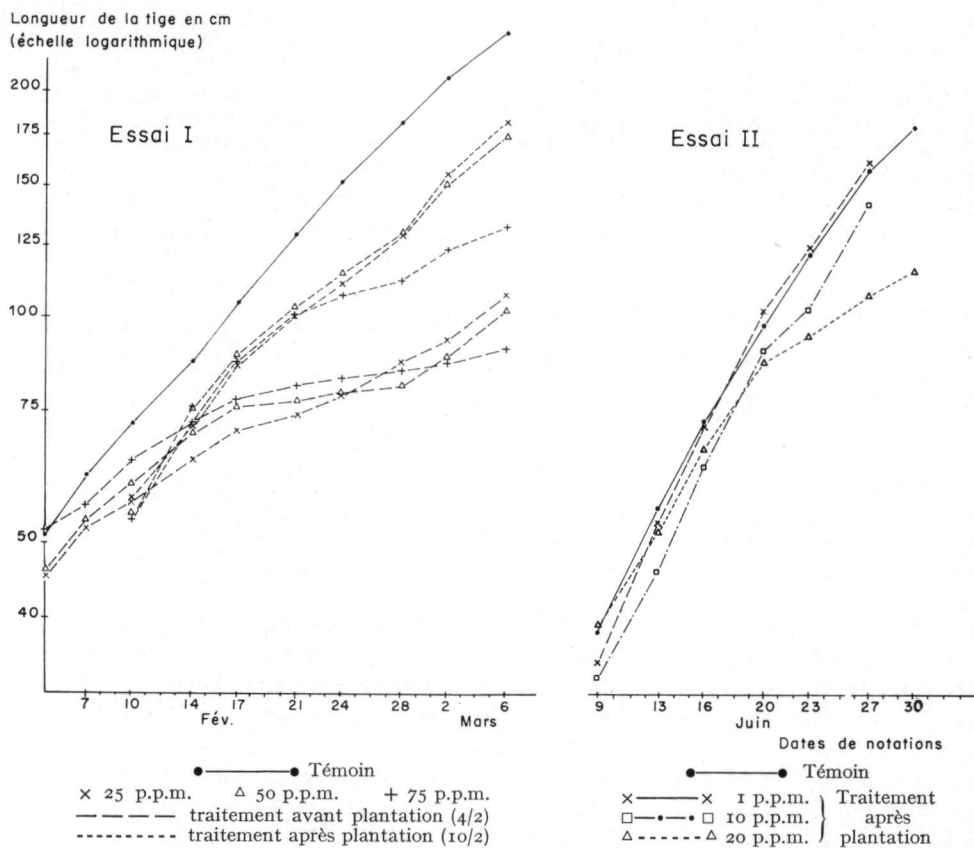


FIG. 1. — Longueur de la tige principale (Cv. « Doublon »)

TABLEAU I

Longueur de la tige principale
(exprimée en pourcentage de celle des plantes témoins)

Lignées traitées	Longueur de la tige des témoins en cm	Effet de l'époque d'application (toutes doses confondues)		Effet de la dose (époques d'application confondues)		
		avant plantation	après plantation	25 mg/l	50 mg/l	75 mg/l
« Gynoioue »	132	62	82	76	73	68
« Monoïque »	121	57	77	68	72	61
« Doublon »	151	53	74	63	64	63

Une analyse analogue du nombre de nœuds sur la tige principale le 24 février (tabl. 2) montre que si le nombre de nœuds a été réduit par l'application de morphactine, cette réduction est moindre que celle observée sur la longueur : la morphactine réduit donc à la fois le nombre de nœuds et la longueur des entrenœuds.

TABLEAU 2

Nombre de nœuds de la tige principale le 24 février
(exprimé en pourcentage de celui des plantes témoins)

Lignées traitées	Nbre de nœuds des témoins	Effet de l'époque d'application (toutes doses confondues)		Effet de la dose (époques d'application confondues)		
		avant plantation	après plantation	25 mg/l	50 mg/l	75 mg/l
« Gynoïque »	20	83	98	94	94	85
« Monoïque »	17	76	89	85	88	74
« Doubloon »	21	60	82	80	79	79

Ramifications.

Le 24 février, toutes les ramifications ont été mesurées dans l'essai I et la somme de leur longueur, exprimée en fonction de celle du témoin, est reportée dans le tableau 3.

TABLEAU 3

Longueur totale des ramifications le 24 février
(exprimé en pourcentage de celle des témoins)

Lignées traitées	Longueur des ramifications des témoins en cm	Effet de l'époque d'application (toutes doses confondues)		Effet de la dose (époques d'application confondues)		
		avant plantation	après plantation	25 mg/l	50 mg/l	75 mg/l
« Gynoïque »	232	89	61	79	77	69
« Monoïque »	144	91	67	90	78	68
« Doubloon »	307	52	46	52	51	46

Contrairement à l'action observée sur la tige principale la morphactine a une action sur les ramifications, plus importante lorsqu'elle est appliquée après plantation qu'avant.

Cette réduction de la longueur totale des ramifications s'accompagne d'un autre phénomène : l'affaiblissement des relations de dominance existant normalement entre ramifications : la figure 2 représente, dans le cas de « Doubloon », la lon-

gueur moyenne des ramifications à chaque nœud pour les plantes témoins et pour les plantes traitées avant et après plantation, toutes doses confondues ; les graphiques pour les autres lignées étant assez semblables n'ont pas été reproduits. On voit clairement sur ces graphiques que la morphactine uniformise la longueur des ramifications latérales.

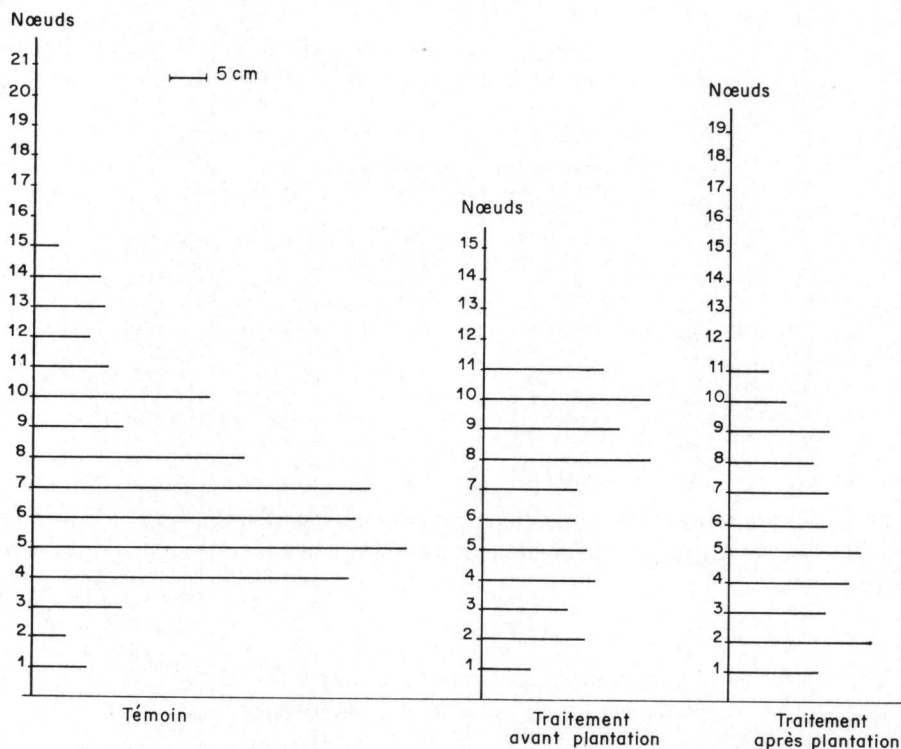


FIG. 2. — Longueur moyenne des ramifications à chaque nœud (Cv. « Doublon »)

Études histologiques.

L'observation de coupes de tige, de pétiole ou de nervure du limbe montre que les plantes traitées diffèrent des plantes témoins par une lignification intense du parenchyme ligneux et des vaisseaux du métaxylème II. Le nombre de ces vaisseaux est réduit de même que leur diamètre.

Effet sur la biologie florale

Floraison mâle.

La précocité d'apparition des fleurs mâles n'est pas modifiée par le traitement ; par contre des anomalies morphologiques apparaissent tant au niveau du périanthe que de l'androcée, surtout aux doses supérieures à 25 mg/l.

Le nombre des sépales et des pétales peut être réduit ; ces pièces florales peuvent être plus ou moins soudées ; on obtient des fleurs zygomorphes ou même complètement anormales.

Les anomalies observées sur étamines sont nombreuses : formation d'anthères surnuméraires, modification de la forme des anthères, soudure des étamines, transformation en pièces stériles (staminodes). L'augmentation de taille des rudiments du pistil est fréquente elle peut s'accompagner d'une soudure au filet des étamines, les anthères se trouvant alors portées par une colonne centrale charnue.

Floraison femelle ou bisexuée.

Dans l'essai I, chez les trois lignées, l'application de morphactine a entraîné un retard de l'apparition des fleurs femelles ou bisexuées par avortement des premières fleurs formées, retard d'autant plus marqué que la lignée était plus précoce (tabl. 4).

TABLEAU 4

Date de floraison femelle ou bisexuée
(date à laquelle les 2 plantes ont fleuri)

Lignées	Témoin	Traitement A (avant plantation)			Traitement B (après plantation)		
		25 mg/l	50 mg/l	75 mg/l	25 mg/l	50 mg/l	75 mg/l
« Gynoïque »	2/3	1/4	26/3	1/4	26/3	21/3	13/3
« Monoïque »	21/3	1/4	1/4	1/4	26/3	1/4	> 1/4
« Doublon »	2/3	1/4	26/3	1/4	26/3	2/3	2/3

Les fleurs femelles n'ont présenté que de rares anomalies morphologiques au niveau du périanthe, aucune anomalie au niveau des stigmates, du style ou de l'ovaire.

Chez les fleurs hémaphrodites par contre, des anomalies du périanthe et de l'androcée semblables à celles observées chez les fleurs mâles ont été observées, accompagnées souvent d'un accroissement de la taille des stigmates.

Dans l'essai II, l'apparition des fleurs femelles ou bisexuées n'a pas été systématiquement notée, mais le 30 juin, un comptage de ces fleurs montre l'effet dépressif de la morphactine sur la formation des fleurs pistillées (tabl. 5).

TABLEAU 5

Nombre de fleurs femelles ou hermaphrodites le 30 juin. Essai II
(Somme des 4 plantes)

Lignées	Témoin	1 mg/l	10 mg/l	20 mg/l
« Doublon »	20	27	17	12
« Monoïque »	8	3	2	1

Parthénocarpie.

Les doses de morphactine utilisées en pulvérisation sur feuillage dans l'essai I ayant entraîné un avortement massif des fleurs, nous n'avons pas fait d'expérimentation spéciale pour mettre en évidence un effet parthénocarpique chez les plantes ainsi traitées. Nous avons seulement étudié, sur des plantes non préalablement traitées, l'effet de la morphactine apportée au pinceau directement sur l'ovaire de fleurs épanouies, technique utilisée antérieurement dans l'étude des effets de l'acide β -naphthoxyacétique (RISSER, 1969).

Après badigeonnage de l'ovaire, on observe généralement les phénomènes suivants : dès le lendemain l'ovaire semble moins turgescent, les poils qui le recouvrent prennent un aspect blanchâtre et cotonneux ; la feuille à l'aisselle de laquelle se trouve la fleur peut montrer quelques symptômes passagers de flétrissement ; deux ou trois jours plus tard l'ovaire commence à jaunir, puis se nécrose.

TABLEAU 6

Évolution des fleurs traitées localement dans l'essai I

(T : nombre de fleurs traitées ; N : nombre de fruits développés)

Lignées	Témoin		25 mg/l		50 mg/l		75 mg/l	
	T	N	T	N	T	N	T	N
« Gynoïque »	6	0	8	0	8	0	7	0
« Monoïque »	2	0	1	0	2	0	4	0
« Doublon »	3	2	7	0	8	2	7	1

TABLEAU 7

Évolution de fleurs à corolle pincée dans l'essai II

(T : nombre de fleurs pincées ; N : nombre de fruits développés)

Lignées	Témoins		Traitement avant plantation						Badigeon de l'ovaire					
			1 mg/l		10 mg/l		20 mg/l		1 mg/l		10 mg/l		20 mg/l	
	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N	T	N
« Monoïque »	18	0	23	0	5*	0	5*	0	14	0	14	0	15	0
« Doublon »	17	1*	21	1*	13	1*	9*	1*	19	3*	17	0	14	0

* Le relativement faible nombre de fleurs « pincées » souligne l'effet défavorable de la morphactine sur la floraison femelle.

* Le pincement de la corolle évite la pollinisation de la fleur par les insectes mais n'empêche pas l'autopollinisation des fleurs hermaphrodites de « Doublon ».

Aucun ovaire traité ne se développa en fruit chez les lignées gynoiques et monoïques, où les fleurs traitées étaient purement femelles quelques-uns se développèrent chez « Doublon » où les fleurs traitées étaient bisexuées (tabl. 6). Dans ce dernier cas les fruits récoltés étaient plus petits que les fruits du témoin. La présence de graines normalement développées, observée à maturité, montra bien qu'il ne s'agissait pas de développement parthénocarpique.

Les données du tableau 7 montre le devenir de fleurs non pollinisées dans l'essai II. Là encore, aucune tendance au développement parthénocarpique n'a été observée.

DISCUSSIONS ET CONCLUSIONS

Il n'entrait pas dans nos intentions de faire une étude exhaustive de l'effet sur Melon de la morphactine utilisée. Nous voulions seulement répondre à deux questions précises : la morphactine induit-elle le développement parthénocarpique des fruits de Melon ? permettrait-elle la culture de lignées gynoiques ne montrant pas de parthénocarpie naturelle ainsi qu'elle semble pouvoir le faire chez le Concombre ? (CANTLIFFE *et al.*, 1972).

Les divers essais réalisés permettent de répondre négativement à ces deux questions ; non seulement la morphactine utilisée n'a provoqué aucune tendance à la parthénocarpie, mais encore elle a eu un effet défavorable très net sur la floraison femelle, les fleurs pistillées, avortant en grand nombre à un stade plus ou moins précoce.

Accessoirement, nous avons observé un certain nombre d'effets constatés assez généralement sur les plantes traitées par ce groupe de substance (SCHNEIDER, 1970) : nanisme, affaiblissement des relations de dominance entre bourgeons latéraux, déformations foliaires et florales.

Reçu pour publication en novembre 1973.

REMERCIEMENTS

La morphactine utilisée nous a été obligeamment procurée par le Docteur SCHNEIDER des Établissements E. Merck, Allemagne fédérale que nous remercions.

SUMMARY

EFFECTS OF MORPHACTIN ON GROWTH AND FLORAL BIOLOGY OF MELON (*CUCUMIS MELO*)

A morphactin, 2-chloro-9-hydroxyfluorene-9-carboxylic methyl ester, was used by spraying foliage of various melon lines (gynoeious, monoecious and andromonoecious) at concentrations from 1 to 75 mg/l.

The main observed effects were :

- yellowing and some necrosis of margins of subapical leaves ;
- necrosis and death of the apex at the higher concentrations ;
- decrease of the number and length of nodes on main stem ;
- strong lignification of the woody parenchyma and of metaxylem II vessels ;
- morphological abnormalities of perianth and stamens ;
- abortion of first female and bisexual flowers.

Contrary to the effects on cucumber, no parthenocarpic development of fruit was observed, neither on sprayed plants nor on plants where morphactin was located on ovaries.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CANTLIFFE D. J., ROBINSON R. W., SHANNON S., 1972. Promotion of cucumber fruit set and development by chlorflurenol. *Hortscience*, **7**, 4, 416-418.
- RISSER G., 1969. Effet de quelques substances de croissance sur la fructification du Melon (*Cucumis melo* L.). I. Effet de l'acide β -naphtoxyacétique. *Ann. Physiol. vég.*, **11**, 4, 359-371.
- ROBINSON R. W., CANTLIFFE D. J., SHANNON S., 1971. Morphactin induced parthenocarpy in the cucumber. *Science*, **171**, 3977, 1251-1252.
- SCHNEIDER G., 1970. Morphactins : physiology and performance. *Annu. Rev. Plant. Physiol.*, **21**, 499-533.
-

DÉCLENCHEMENT DES PHÉNOMÈNES DE RÉGÉNÉRATION SUR DES PÉTALES DE *PETUNIA HYBRIDA*

Catherine BERGOUGNIOUX

Laboratoire d'Amélioration des Plantes,
Faculté d'Orsay, Batiment 360
91405 Orsay

RÉSUMÉ

L'étude de quelques facteurs pouvant influencer sur la néo-formation de bourgeons (régénération) a été effectuée *in vitro* à partir de corolles de *Petunia hybrida* : l'incidence du stade de développement de la corolle, du volume de l'explant et du génotype.

Les résultats obtenus montrent :

- 1° L'importance du stade de développement et du génotype utilisé ;
- 2° Que le phénomène est « contagieux » entre les tissus de l'explant mais non à travers le milieu.

INTRODUCTION

Sur les pétales des plantes florales, des mutations somatiques apparaissent en larges secteurs. Les fixer sous forme de variants permettrait à une étude génétique de saisir la nature de la modification qui a eu lieu. Cette étude nous a conduite à envisager quelques aspects de la régénération *in vitro* chez le Pétunia.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous utilisons les plantes de la variété commerciale « Rose du ciel » comme suit :

Schéma de la méthode d'obtention du clone C et des plantes V₁, V₂... V₆ à partir de cette variété (fig. 1).

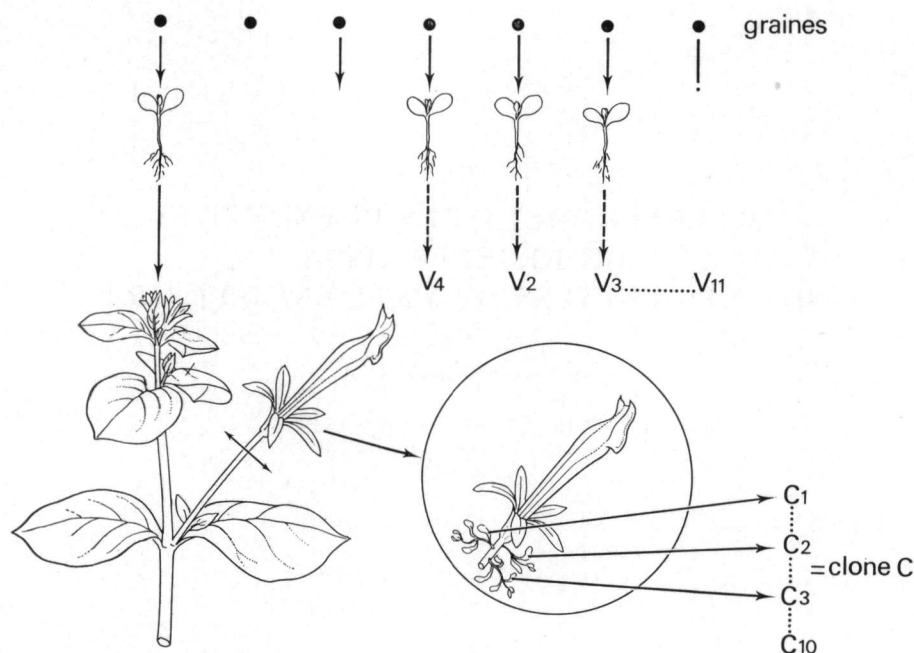


FIG. 1

Nous stérilisons les fleurs en les trempant 10 minutes dans un bain de Teepol (10 gouttes pour 500 ml d'eau), puis trois minutes dans un bain d'hypochlorite à 7 p. 100. Après rinçage à l'eau distillée stérile, nous prélevons les pétales que nous disposons dans des tubes contenant un milieu de base gélosé à pH 5,8 composé de macro-éléments de MURASHIGE et SKOOG (1962), de micro-éléments de HELLER (1953), de vitamines (MOREL et WETMORE, 1951) et de saccharose à 20 g/l. Ces tubes sont ensuite entreposés dans des enceintes climatisées à 21°C sous une photo-période de 16 heures de jour (tubes fluorescents Sylvania gro-lux) et 8 heures de nuit.

RÉSULTATS

I. — Mise au point des substances de croissance Quantité nécessaire à la caulogénèse

On ne constate aucune prolifération sur les corolles prélevées au stade = A (fig. 2) et posées à plat, face ab-axiale contre le milieu. Nous avons alors essayé d'orienter des cellules du pétale vers un fonctionnement organogène par le jeu des équilibres cytokinine/auxine ajoutées au milieu de base. Nous établissons les concentrations K/ANA ⁽¹⁾ de $2 \cdot 10^{-6}/10^{-7}$ à $3 \cdot 10^{-6}/10^{-7}$, propices à la formation de jeunes plantes. Nous avons corrélativement étudié l'action de divers autres équilibres BA/ANA, K/2,4-D, mais la seule co-présence K/ANA a permis une caulogénèse, BUNISSET-BERGOUGNIOUX, 1972.

Des cellules de la corolle peuvent à l'instar de certaines autres, être à l'origine

⁽¹⁾ K : kinétine ; BA : benzyl adénine ; ANA : acide naphthalène-acétique ; 2,4-D : acide 2,4-dichlorophénoxyacétique.

d'une organogenèse *in vitro*, sur milieu gélosé. Elles ont donc gardé toutes leurs informations génétiques qui peuvent fonctionner à nouveau selon la chronologie embryonnaire. La régénération se situe généralement sur les nervures principales de la face ab-axiale. Ce phénomène est loin d'être compris.

Pour WILBUR et RIOPEL (1971), « la différenciation cellulaire peut être attribuée à la position, aux relations des cellules les unes par rapport aux autres autant qu'à un facteur génétique ou biochimique ». Cette proposition nous a conduite à poser les cinq questions suivantes :

— Jusqu'à quel stade de la différenciation les cellules de la corolle peuvent-elles donner naissance à ce phénomène?

— Un certain volume d'explant est-il nécessaire?

— Le phénomène est-il sous contrôle génétique?

— Se localise-t-il de façon aléatoire sur la corolle?

Reprenons chacune de ces questions et essayons d'y répondre.

2. — *Jusqu'à quel stade de la différenciation les cellules de la corolle peuvent-elles donner naissance à ce phénomène?*

Nous distinguons dans les boutons les étapes suivantes :

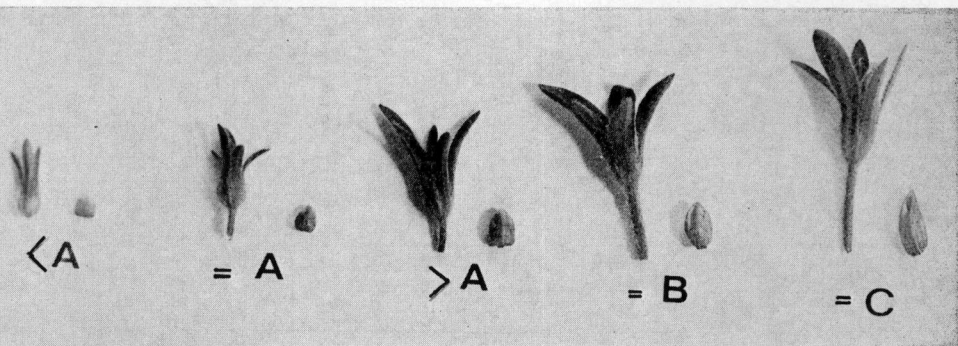


FIG. 2

Age < A : pollen au stade tétrade.

Age = A : pollen au stade tétrade ; les sépales s'ouvrent.

Age > A : les sépales s'ouvrent laissant apparaître la corolle.

Age = B : les sépales sont très écartées.

Age = C : les sépales sont égales aux pétales.

Le χ^2 effectué entre les cinq stades de croissance est égal à 16,89 avec quatre degrés de liberté. Il est donc significatif au seuil 0,05, montrant que le stade des boutons floraux influe sur le pourcentage de corolles qui régénèrent. Il s'avère nécessaire de choisir l'explant à un niveau de développement compris entre celui où les sépales sont complètement fermés et le stade où la taille des pétales est égale à celle des sépales. Ce pourcentage décroît progressivement du stade <A au stade =C. Tout se passe comme si, au-delà d'une certaine phase de croissance, les cellules se trouvaient par trop engagées dans la voie irréversible de la différenciation du pétale.

TABLEAU I

Ce tableau présente le pourcentage de régénération obtenu à partir de chaque corolle en fonction :

- a) de son stade de développement,
b) du nombre d'explants mis en culture.

Stades	< A	= A	> A	= B	= C
Nombre de corolles mises en culture	24	24	23	22	21
Nombre de corolles régénérant des plantes.	16	11	9	4	0
Pourcentage de régénération	66	45	39	18	0

3. — Un certain volume d'explant est-il nécessaire?

Le nombre des corolles qui régénèrent a été analysé au stade = A sur le clone C :

- soit sur des cultures contenant la corolle entière ;
- soit sur des cultures contenant une demi-corolle coupée longitudinalement ;
- soit sur des cultures contenant un tiers de corolle coupé longitudinalement.

TABLEAU 2

Effet du volume de l'explant

Expérience sur milieu de base + ANA 10^{-7}	Corolles entières		Demi-corolles*		Tiers de corolles*	
	$2 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-6}$
Kinétine						
Nombre de corolles mises en culture	23	23	18	18	20	20
Nombre de corolles ayant régénéré	17	12	11	12	17	20

* Coupées longitudinalement.

Le $\chi^2 = 3,31$, calculé entre corolles entières, demi-corolles et tiers de corolles, n'est pas significatif pour deux degrés de liberté au seuil 0,05. Il ressort de l'ensemble de ces données que, sur ces milieux de culture, la portion de corolle qui régénère n'est pas influencée par le volume initial dans la gamme des volumes employés.

4. — Le phénomène est-il sous contrôle génétique?

Au stade de croissance = A, les corolles de six géotypes sont mises en culture sur un milieu de base.

TABLEAU 3
Effet du génotype

6 plantes	K = $2 \cdot 10^{-6}$ ANA = 10^{-7}	Pourcentage de régénération	K = $3 \cdot 10^{-6}$ ANA = 10^{-7}	Pourcentage de régénération
V ₁ $\begin{cases} 1 \\ 2 \end{cases}$	$\begin{matrix} 12 \\ 0 \end{matrix}$	0	$\begin{matrix} 12 \\ 0 \end{matrix}$	0
V ₂ $\begin{cases} 1 \\ 2 \end{cases}$	$\begin{matrix} 12 \\ 11 \end{matrix}$	92	$\begin{matrix} 12 \\ 12 \end{matrix}$	100
V ₃ $\begin{cases} 1 \\ 2 \end{cases}$	$\begin{matrix} 12 \\ 2 \end{matrix}$	17	$\begin{matrix} 12 \\ 6 \end{matrix}$	50
V ₄ $\begin{cases} 1 \\ 2 \end{cases}$	$\begin{matrix} 6 \\ 3 \end{matrix}$	50	$\begin{matrix} 6 \\ 1 \end{matrix}$	15
V ₅ $\begin{cases} 1 \\ 2 \end{cases}$	$\begin{matrix} 12 \\ 6 \end{matrix}$	50	$\begin{matrix} 12 \\ 9 \end{matrix}$	75
V ₆ $\begin{cases} 1 \\ 2 \end{cases}$	$\begin{matrix} 12 \\ 9 \end{matrix}$	75	$\begin{matrix} 12 \\ 1 \end{matrix}$	8

1 : nombre de corolles mises en culture par expérience ;

2 : nombre de corolles ayant régénéré des plantules (les pourcentages sont arrondis au chiffre supérieur).

Le tableau 3 indique que les taux de régénération sont significativement différents entre les génotypes. Alors que chez la plupart la régénération est facile, un génotype (V₁), pour le même milieu, ne donne naissance à aucune plantule (ceci ouvre la voie à une sélection de ce caractère). Le maximum de néoformations de plantules se situe à des concentrations de kinétine différentes pour les différents génotypes.

5. — *Se localise-t-il de façon aléatoire?*

Sur les plantes du clone C, nous prélevons les fleurs au stade =A. Chaque tube contient les deux moitiés d'une même corolle. Le tableau 4 donne le nombre des demi-corolles qui régénèrent.

TABLEAU 4
Régénération des demi-corolles

Plantes du clone C	C 7	C 3	C 1	C 9	C 10
Nombre de demi-corolles mises en culture	24	24	24	24	22
Nombre de demi-corolles ayant régénéré	12	12	7	12	19

Milieu de base plus K = $3 \cdot 10^{-6}$ et ANA 10^{-7}

Si nous appelons P la probabilité pour une demi-corolle de régénérer,

$$P = \frac{\text{nombre de demi-corolles qui régénèrent}}{\text{nombre total de corolles}},$$

s'il n'y a pas contagion entre les demi-corolles dans un même tube, nous devons avoir pour chaque plante :

- la probabilité qu'aucune demi-corolle ne régénère = (I-P) (I-P) ;
- la probabilité qu'une des deux régénère = 2 (I-P)P ;
- la probabilité que les deux régénèrent = P².

TABLEAU 5

Analyse des effectifs des demi-corolles qui régénèrent sur cinq plantes

Les 3 cas possibles	Proportions calculées	Effectifs calculés	Effectifs observés	Nombre de demi-corolles mises en culture
0 demi-corolle régénère	0,316	15,22	16	32
1 × 1/2 corolle régénère	0,430	25,78	24	24
2 × 1/2 corolle régénèrent	0,254	18,97	19	38

L'accord constaté (tabl. 5) entre les effectifs observés et calculés indique qu'il n'y a pas contagion à travers le milieu entre les demi-corolles et que le phénomène de déclenchement de la régénération sur l'une ou l'autre des demi-corolles est parfaitement aléatoire.

Ces résultats peuvent être précisés par la présentation des comparaisons moyenne-variance établies au niveau des nombres de plantules et des points de régénération (tabl. 6 et 7) et vérifiant la conformité de leur distribution à une loi de Poisson.

TABLEAU 6

Analyse de la distribution du nombre de plantes par corolle et par demi-corolle

	Moyenne $\bar{x}$	Variance s^2	$\chi^2_{n-2} = \frac{(n-1)s^2}{\bar{x}}$	χ^2 au seuil 0,05 avec $n - 2$ degrés de liberté
Par corolle	5,06	30,4	282,37	62,83
Par 1/2 corolle	2,53	18,42	691	113,14

* (PERNES C.V.)

TABLEAU 7

Analyse de la distribution des points de régénération

Moyenne $\bar{x}$ 1 corolle	Variance s^2	$\chi^2_{n-2} = \frac{(n-1)s^2}{\bar{x}}$	Moyenne $\bar{x}$ 1/2 corolle	Variance s^2	$\chi^2_{n-2} = \frac{(n-1)s^2}{\bar{x}}$
2,95	18,43	183,34	1,5	6,01	381

L'ensemble de ces analyses suggère quelques remarques :

— Le tableau 6 montre que la variance est très supérieure à la moyenne.

— Les nombres de plantules qui apparaissent sur une même corolle ne suivent pas une loi de Poisson. L'excès de fréquences élevées suggère l'intervention d'un phénomène de contagion dans le processus de régénération. Deux types de précisions peuvent être apportés aux modalités de cette intervention :

a) Il ressort de l'analyse des résultats par demi-corolle que l'apparition d'une plantule entraîne de manière très nette sur cette même partie celle de plusieurs autres jeunes plantes.

b) L'analyse des points de régénération — qu'effectue le tableau 7 — par corolle ou par demi-corolle prouve que leur localisation n'est pas le fait du hasard mais qu'au contraire elle est concentrée sur certaines demi-corolles. L'apparition d'un premier point de régénération favorise l'extension de ce phénomène aux zones voisines.

CONCLUSION

Il semble en définitive que conformément aux hypothèses avancées par WILBUR et RIOPEL (1971), le phénomène de régénération *in vitro* soit fonction du génotype utilisé pour un milieu de culture et un stade de croissance donné. L'apparition de ce phénomène est fondée sur la plus ou moins grande aptitude des cellules des jeunes pétales à être induites vers un fonctionnement organogène selon leur génotype. Enfin, cette potentialité paraît contagieuse à l'intérieur d'un implant, mais non à travers le milieu gélosé.

Il reste à expliquer ce phénomène de contagion. Le fait qu'elle ne s'exerce qu'à travers les tissus de l'implant conduit à supposer que celle-ci joue un rôle actif dans la création des conditions microlocales qui induisent certaines cellules à proliférer, en produisant lui-même des substances qui diffusent, en filtrant les diffusions de ces substances et de celles qui viennent du milieu de culture.

Reçu pour publication en décembre 1973.

SUMMARY

INDUCING REGENERATION FROM THE COROLLA IN *PETUNIA HYBRIDA*

In vitro studies have been conducted on some factors that may influence the regeneration from the corolla in *Petunia hybrida*. The effect of the stage of development of the corolla, the volume of the implant, and the genotypic structure were considered.

The results show :

1. The importance of the development stage and of the genotype ;
2. The contagious distribution of the phenomenon within implant tissues only and not through the medium.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BUNISSET-BERGOUGNIOUX C., 1972. *Analyse de quelques modalités de régénération à partir de la corolle et du pédoncule chez le Petunia hybrida cultivé in vitro*. Thèse troisième cycle. Faculté d'Orsay. Laboratoire d'Amélioration des Plantes.
- HELLER R., 1953. *Recherches sur la nutrition minérale des tissus cultivés in vitro*. Thèse, Paris, 223 pages. *Ann. Sci. nat. Biol. vég.* **14**, 1-123.
- MOREL G., WETMORE R. H., 1951. Fern callus tissue culture. *Amer. J. Bot.*, **28**, 141-143.
- MURASHIGE T., SKOOG F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.*, **15**, 473.
- WILBUR F. H., RIOPEL J. L., 1971. The role of cell interaction in the growth and differentiation of *Pelargonium hortorum* cells *in vitro*. Cell interaction and growth. *Bot. Gaz.* **132**, 183-193.
-

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA PRODUCTION DE GRAINES DE LUZERNE EN CONDITIONS ARTIFICIELLES EN VUE D'ACCÉLÉRER LES GÉNÉRATIONS

I. — INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN AZOTE DE LA SOLUTION NUTRITIVE

Marie-Thérèse CHESNEAUX

*G. E. V. E. S.,
Groupe des Laboratoires et Services de la Minière,
Guyancourt, 78000 Versailles*

RÉSUMÉ

La Luzerne est une espèce qui s'adapte parfaitement bien à la culture en conditions artificielles. A 24°C constants, avec un éclairage continu de 15 000 lux, il est possible d'obtenir un cycle complet de la graine à la graine en huit semaines, quatre pour atteindre la floraison, quatre pour la maturation des graines.

L'appauvrissement en azote nutritive à partir de la fécondation des fleurs n'accélère pas la maturation des graines. Dès 21 jours après la pollinisation, on peut disposer d'un nombre suffisant de graines pour passer à la génération suivante. Il est nécessaire d'attendre 27 jours pour pouvoir conserver les graines. A ce stade, on observe l'apparition de graines dures.

INTRODUCTION

L'utilisation de cultures en conditions artificielles a permis d'obtenir, depuis plusieurs années déjà, des générations accélérées chez la Luzerne, ce qui réduit considérablement le temps nécessaire pour la création de variétés. Dès 1965, une note technique sur des essais en serre précisait les conditions de culture réalisées, ainsi que les résultats obtenus. Depuis, les cultures en conditions artificielles se sont généralisées et, dans de nombreux cas, c'est maintenant en chambres climatisées que l'on travaille, afin de mieux maîtriser la température et l'éclairage. S'il

est courant de produire des fleurs de Luzerne en 30 à 35 jours, en conditions artificielles, la phase floraison-maturité par contre, semble un peu trop longue à laquelle on attend la graine de la génération suivante.

Parmi les facteurs pouvant intervenir sur la maturation, nous avons retenu d'étudier dans un premier temps ⁽¹⁾ l'influence de la composition de la solution nutritive apportée aux plantes à partir de la fécondation. On peut penser en effet qu'un déséquilibre entre les composants de la solution provoquerait certaines carences et de ce fait permettrait d'accélérer la maturation des graines. La Luzerne, comme toutes les légumineuses, fixe l'azote de l'air par l'intermédiaire des bactéries contenues dans les nodosités des racines. En culture normale, il n'est donc pas utile de lui apporter de l'azote. Par contre, le dispositif choisi pour cet essai utilise une matière inerte comme substratum et l'apport d'azote est nécessaire au bon développement des plantes. C'est le principe d'un appauvrissement en azote de la solution nutritive qui a été retenu comme modification de la composition de cette solution. Les installations du G. E. V. E. S. à la Minière ont permis de réaliser cet essai.

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

1. — Description du dispositif

Trois variétés françaises de Luzerne « FD 100 », « du Puits », « Hybride Milfeuil », ont été repiquées après une pré-germination de trois jours dans des pots remplis de vermiculite n° 3 à raison de 8 plantes par pot, chaque variété étant répétée 4 fois. Les essais ont été conduits dans les conditions suivantes :

- Température constante à 24°C ;
- Hygrométrie : 70 p. 100 ;
- Éclairement continu de 15 000 lux fourni par des cadres de tubes fluorescents complétés par des ampoules à incandescence sous-voltées ;
- Durée de l'essai : deux mois.

Les bacs de culture des chambres climatisées du G. E. V. E. S. comportent un système d'alimentation par sub-irrigation fonctionnant en circuit fermé et permettant d'apporter la solution nutritive d'une manière contrôlée en fréquence, en durée et en température. Chaque chambre est équipée de deux bacs de culture. Dans l'un des deux (bac A), la composition de la solution est restée la même tout au long de l'essai ; dans l'autre (bac B), cette composition a été appauvrie en azote à partir de la fécondation croisée réalisée à la main 30 jours après le semis.

2. — Étude des graines produites et de leur pouvoir germinatif

Des prélèvements de graines ont été effectués tous les trois jours du quinzième au trentième jour suivant le déclenchement, toutes les fleurs ayant été déclenchées le même jour. Une estimation de la fertilité a été faite en comptant le nombre de gousses sur 10 inflorescences, le nombre total de graines et en calculant le nombre moyen de graines par gousse. D'autre part, la faculté germinative a été déterminée en boîtes de Petri, sur 100 graines en utilisant trois méthodes différentes de germination.

1° Graines placées sur papier-filtre imbibé d'eau distillée ; dans les essais présentent des graines dures, celles-ci ont été incisées pour permettre la classification des plantes en germes normaux et anormaux.

2° Enveloppe incisée, puis papier-filtre imbibé d'eau distillée.

3° Enveloppe incisée, puis papier-filtre imbibé d'eau distillée avec adjonction de gibbéréline à 0,2 mg/litre.

Pour les trois méthodes, les boîtes ont été placées en étuve obscure à 20°C.

⁽¹⁾ Une deuxième série d'essais réalisés au Phytotron du C. N. R. S. a permis d'étudier l'influence de la température sur cette maturation.

TABLEAU I

Composition des solutions nutritives
(pour 1 000 litres d'eau du robinet)

	Bac A et Bac B jusqu'à la fécondation (g)	Bac B à partir de la fécondation (g)
Nitrate de potassium KNO_3	610	610
Nitrate de calcium $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2, 4\text{H}_2\text{O}$	230	0
Nitrate d'ammonium NH_4NO_3	155	0
Phosphate monopotassique KH_2PO_4	135	135
Acide borique H_3BO_3	3	3
Sulfate de manganèse $\text{MnSO}_4, \text{H}_2\text{O}$	3	3
Sulfate de cuivre $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$	3	3
Sulfate de zinc $\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$	3	3
Molybdate d'ammonium $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{H}_{24}, 4\text{H}_2\text{O}$	3	3
Séquestrène de fer 138 Fe	10	10

TABLEAU 2

Fertilité observée suivant deux modes d'alimentation minérale

Variétés	Date du prélèvement (¹)	Nombre de gousses pour 10 inflorescences		Nombre de graines par gousses	
		Bac A	Bac B	Bac A	Bac B
« FD 100 »	15	59	58	4,7	5,6
	18	57	48	2,7	5,7
	21	57	46	5,3	5,6
	24	62	52	4,8	5,6
	27	57	51	4,1	6,2
	30	48	50	3,7	5,1
« du Puits »	15	62	51	4,1	4,4
	21	64	47	4,8	5,9
	27	63	56	4,2	4,6
« Hybride Milfeuil »	18	61	49	3,8	3,9
	24	58	56	3,7	3,7

(¹) Nombre de jours après le déclenchement des fleurs.

Les comptages ont eu lieu tous les deux jours jusqu'à ce que toutes les plantules normales au sens des règles de l'I. S. T. A. aient germé, soit 18 jours pour les essais correspondant au premier prélèvement et 9 jours pour le dernier.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. — Analyse quantitative des graines produites

Pour la variété « FD 100 », six prélèvements ont été faits après la pollinisation à 15, 18, 21, 24, 27 et 30 jours. Les graines des deux autres variétés n'ont été prélevées que trois fois chacune : pour la variété « du Puits » à 15, 21 et 27 jours, pour la variété « Hybride Milfeuil » à 18, 24 et 30 jours. Chaque prélèvement a porté sur dix inflorescences réparties au hasard, qui ont produit entre 200 et 300 graines.

Le tableau 2 résume les résultats obtenus.

Les différences observées d'un prélèvement à l'autre pour une variété donnée à l'intérieur d'un bac ne sont pas significatives et une analyse par le test χ^2 montre que les différences observées entre les deux bacs ne sont significatives pour aucune des variétés. A titre indicatif, le nombre moyen de graines par gousse a été également inclus dans le tableau.

TABLEAU 3

Faculté germinative observée après différentes méthodes de mise en germination

Variétés	Date de prélèv. ⁽¹⁾	Traitement											
		Bac avec azote						Bac appauvri en azote					
		méthode 1		méthode 2		méthode 3		méthode 1		méthode 2		méthode 3	
		N	A	N	A	N	A	N	A	N	A	N	A
« FD 100 »	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	18	20	18	26	22	14	14	8	34	10	14	4	10
	21	74	12	82	12	78	18	50	18	56	14	56	10
	24	88	4	96	4	92	2	88	6	88	4	96	0
	27	92	0	92	4	82	12	92	2	96	2	92	6
	30	96	4	92	0	84	12	86	4	86	4	88	6
« du Puits »	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	21	62	16	78	12	84	10	60	24	72	14	60	18
	27	92	8	94	2	92	6	90	6	98	2	92	4
« Hybride Milfeuil »	18	8	16	18	18	6	18	0	10	6	22	2	12
	24	94	6	90	2	94	0	84	6	86	6	96	0
	30	96	0	90	4	98	0	92	4	98	2	100	0

⁽¹⁾ Nombre de jours après le déclenchement des fleurs.

2. — *Étude qualitative des graines produites*

Le tableau 3 se rapporte aux résultats de détermination de la faculté germinative des trois variétés analysées, selon les trois méthodes indiquées précédemment. Pour plus de clarté, seuls les pourcentages se rapportant aux germes normaux (N) et anormaux (A) ont été donnés, le complément à 100 du total de ces deux chiffres correspondant aux graines non germées.

L'examen de ce tableau montre que le début de la faculté germinative s'établit entre le 15^e et le 18^e jour dans les conditions de nos essais avec un maximum de pouvoir germinatif au 24^e jour.

L'analyse de variance des résultats variété par variété, après transformation angulaire et élimination du prélèvement à 15 jours pour lequel aucune germination n'a été observée, donne les résultats ci-après ; toutes les comparaisons ayant été effectuées par rapport à la variance théorique 8,207.

$\left[\left(\frac{8,207}{n} \right) \right]$ de la variable transformée arc sin $\sqrt{p}$ étant le pourcentage de germination et n le nombre de graines par répétition].

Les résultats figurent dans le tableau 4 :

TABLEAU 4

Valeurs du rapport de la variance observée sur la variance théorique (F)

Variétés	Effets principaux			Interactions du premier ordre		
	Dates (D)	Bacs (B)	Méthode (M)	M × B	M × D	B × D
« FD 100 »						
germes normaux	365,85**	27,07**	3,64*	3,59*	2,12*	10,76**
germes anormaux	36,48**	0,15	0,66	7,82**	7,86**	0,50
« du Puits »						
germes normaux	122,79**	2,85	6,84**	2,52	1,21	6,27*
germes anormaux	44,33**	0,86	4,80**	0,04	0,51	3,67
« Hybride Milfeuil »						
germes normaux	978,86**	6,15*	7,29**	6,90**	6,30**	11,83**
germes anormaux	68,95**	0,34	13,46**	0,79	4,04**	1,37

* Significatif au seuil de probabilité $p = 0,05$;

** Significatif au seuil de probabilité $p = 0,01$.

On remarque des différences hautement significatives entre les dates de prélèvement, même pour la variété « du Puits » dont les graines n'ont été prélevées qu'à 21 et 27 jours. Par contre, les différences significatives observées au niveau des bacs ne concernent que les germes normaux des variétés « FD 100 » et « Hybride Milfeuil », ces différences donnent l'avantage au bac contenant une quantité normale d'azote. Enfin on note également des différences hautement significatives au niveau des

méthodes (exception faite des germes anormaux de la variété « FD 100 ») : la méthode comportant l'incision de l'enveloppe donne de meilleurs résultats que la méthode de germination simple en particulier pour les premiers prélèvements, l'adjonction de gibbérelline n'ayant rien apporté à ce stade. Il faut préciser que si les graines obtenues au vingt et unième et au vingt-quatrième jour sont totalement vertes, l'enveloppe est déjà imperméable à l'eau, ce qui explique qu'une incision puisse améliorer la germination. La maturation intervient à 27 jours, les graines virent au jaune puis au brun, des graines dures apparaissent qui s'imbibent sans difficulté après scarification. le stockage est alors possible.

CONCLUSION

Ces essais montrent que parmi les méthodes pouvant être retenues d'un point de vue pratique pour réduire le temps nécessaire à l'obtention d'une génération de luzerne en conditions artificielles, l'appauvrissement en azote n'a pas apporté d'élément positif. En effet, si ce mode d'alimentation a permis d'augmenter le nombre de graines obtenues, la qualité de ces graines est moins bonne, en particulier dans les premiers jours, et cet inconvénient doit être corrigé par une incision de l'enveloppe de la graine au moment de la mise en germination.

Reçu pour publication en décembre 1973.

SUMMARY

CONTRIBUTION TO THE STUDY OF LUCERNE SEED PRODUCTION UNDER ARTIFICIAL CONDITIONS WITH A VIEW TO SPEEDING UP GENERATIONS.

I. — INFLUENCE OF THE NUTRITIVE SOLUTION NITROGEN CONCENTRATION

Lucerne is a species which presents an excellent adaptation to growth under artificial conditions. At a constant temperature of 24°C with continuous illumination of 15 000 lux, it is possible to obtain a complete cycle from seed to seed in eight weeks : four weeks to reach flowering and four weeks for maturation of the seeds.

Nutritive nitrogen impoverishment from the fertilization of the flowers onwards does not speed up seed maturation. From 21 days after pollination there are a sufficient number of seeds to proceed to the next generation. It is necessary to wait 27 days to be able to keep the seeds. At this stage the appearance of hard seeds can be observed.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BLONDON F., CHESNEAUX M. T., GUY P., 1967. Action de la photopériode et de la thermopériode sur le comportement de deux types de luzernes françaises. *C. R. Acad. Sci.*, **264**, 596-598.
- DATTEE Y., 1972. Hérité quantitive du nombre d'ovules par ovaire dans quelques familles de luzerne cultivée. *Ann. Amélior. Plantes*, **22**, 2, 201-209.
- DEMARLY Y., CHESNEAUX M. T., 1966. La culture de la luzerne en conditions artificielles. *Ann. Amélior. Plantes*, **16**, 3, 299-305.

- GUY P., BLONDON F., DURAND J., 1971. Action de la température et de la durée d'éclairement sur la croissance et la floraison de deux types éloignés de luzerne cultivée. *Ann. Amélior. Plantes*, **21**, 4, 409-422.
- HANSON CH., 1972. *Alfalfa Science and Technology*. Amer. Soc. of Agric. Madison Wisconsin, 677-787.
- LANGER R. H. M., 1967. The effect of light and temperature on the growth of lucerne. In « *The lucerne crop* » A. H. and A. W. Reed (Ed.) Wellington, Auckland and Sydney, 314 p.
- LEACH G. J., 1971. The relation between lucerne shoot growth and temperature. *Austr. J. agric. Res.*, **22**, 49-59.
- VARGA P. et al., 1972. *Lucerna*. Ceres, Bucarest, 203 p.
- Règles Internationales pour les Essais de Semences, 1966. *Proc. Intern. Seed. Test. Assoc.* Wageningen, **31** (3), 402-405.
-

RÉGRESSIONS POLYNOMIALES PAR L'ORIGINE. ANALYSE DE VARIANCE PAR LA MÉTHODE DES COEFFICIENTS ORTHOGONAUX ⁽¹⁾

M. A. DALEBROUX ⁽²⁾

*Services de Biologie des Communautés européennes,
Bruxelles (Belgique)*

RÉSUMÉ

Dans l'article qui suit, l'auteur présente une méthode générale de calcul des coefficients orthogonaux nécessaires aux tests des composantes de régressions polynomiales par l'origine dans une analyse de variance. Un exemple numérique simple est traité.

I. — INTRODUCTION

Dans un premier article de synthèse consacré à la décomposition d'une Somme de Carrés en ses composantes de régressions polynomiales, DALEBROUX (1966) expose la méthode générale d'établissement des coefficients orthogonaux nécessaires, quels que soient les espacements des niveaux de la variable indépendante et les nombres de parcelles élémentaires entrant dans les totaux de la variable dépendante.

Toutefois, ces régressions sont générales et, par conséquent, possèdent toutes, *a priori*, une ordonnée à l'origine. Or, il est bien des cas en biologie, et notamment dans les expériences traitant des effets des agents mutagènes et pour les études de croissance, dans lesquels il est plus raisonnable d'ajuster des régressions passant par l'origine. Il est dès lors nécessaire de décomposer la Somme des Carrés pour les traitements en ses composantes adéquates.

Le présent article se propose de présenter la théorie suivie d'un exemple numérique simple.

⁽¹⁾ Cet article est autorisé par les Services de Biologie des Communautés européennes sous le N° BIO 937, Contrat N° 097-72-1 BIO B.

⁽²⁾ Détaché à l'I. N. R. A., Station d'Amélioration des Plantes, B. V. 1540, F- 21034 Dijon Cedex (France).

II. — PARTIE THÉORIQUE

Puisque les régressions estimées passent par l'origine, il n'est plus nécessaire de tenir compte de la réduction de la Somme des Carrés due à l'ajustement de la moyenne.

Supposons n totaux $T_i (i = 1, 2, \dots, n)$ d'une variable quantitative dépendante. Un total T_i est obtenu sur un nombre r_i de parcelles élémentaires pour le niveau i d'une variable quantitative indépendante X . On obtient le coefficient $C_{k,i}$ pour la réponse de degré k au niveau i de X ,

$$C_{k,i} = X_i^k + \sum_{j=1}^{k-1} c_{k,k-j} X_i^{k-j},$$

après avoir résolu pour les $(k-1)c_{k,k-j}$ le système de $(k-1)$ équations

$$\sum_i r_i C_{m,i} C_{k,i} = 0 \quad ; \quad m = 1, 2, \dots, k-1$$

On note que n totaux observés permettent l'ajustement d'une réponse de degré n , puisque le point $(0,0)$ est un point de passage obligé.

III. — EXEMPLE NUMÉRIQUE

Supposons que l'on conduise une expérience sur la réponse quantitative d'une variable dépendante quelconque Y à trois niveaux, quantitatifs eux aussi bien entendu, d'une variable indépendante X , et que l'on obtienne le tableau récapitulatif suivant :

Niveaux codés de la variable indépendante X	Réponses de la variable dépendante Y	Totaux
1	2, 5, 6, 7	20
2	7, 9	16
4	5, 6, 10	21

L'analyse de variance de ces données se schématise comme suit :

Sources de variation	Degrés de liberté
Totale	9
Traitements	3
[Réponse linéaire (L) Réponse quadratique (Q) Réponse cubique (C)	[1 1 1
Résiduelle	6

Afin de décomposer la Somme des Carrés Traitements en ses composantes linéaire, quadratique et cubique, il faut calculer les coefficients orthogonaux adéquats. Pour la réponse linéaire, il suffit de poser, comme on l'a dit, $C_{1,i} = X_i$, et l'on a :

$$C_{1,1} = 1 \quad ; \quad C_{1,2} = 2 \quad ; \quad C_{1,3} = 4$$

Ceux-ci vont servir à l'établissement des coefficients nécessaires au calcul de la composante quadratique :

X_i	r_i	$C_{1,i}$	$C_{2,i} = X_i^2 + c_{2,1} X_i$
1	4	1	$1 + c_{2,1}$
2	2	2	$4 + 2 c_{2,1}$
4	3	4	$16 + 4 c_{2,1}$

Il faut :

$$\sum_i r_i C_{1,i} C_{2,i} = 0$$

qui donne :

$$c_{2,1} = -\frac{53}{15}$$

Par conséquent, en éliminant le dénominateur commun 15, on obtient :

$$\begin{aligned} C_{2,1} &= 15 - 53 = -38 \\ C_{2,2} &= 60 - 106 = -46 \\ C_{2,3} &= 240 - 212 = +28 \end{aligned}$$

En divisant encore par 2 chacun des coefficients $C_{2,i}$, on a finalement :

$$C_{2,1} = -19 \quad ; \quad C_{2,2} = -23 \quad ; \quad C_{2,3} = +14$$

Il reste à déterminer les coefficients qui permettent le calcul de la composante cubique :

X_i	r_i	$C_{1,i}$	$C_{2,i}$	$C_{3,i} = X_i^3 + c_{3,2} X_i^2 + c_{3,1} X_i$
1	4	1	-19	$1 + c_{3,2} + c_{3,1}$
2	2	2	-23	$8 + 4 c_{3,2} + 2 c_{3,1}$
4	3	4	+14	$64 + 16 c_{3,2} + 4 c_{3,1}$

Il faut :

$$\sum_i r_i C_{1,i} C_{3,i} = \sum_i r_i C_{2,i} C_{3,i} = 0$$

et, en résolvant pour $c_{3,1}$ et $c_{3,2}$, on a :

$$c_{3,1} = \frac{602}{103} \quad ; \quad c_{3,2} = -\frac{561}{103}$$

Donc, en éliminant le dénominateur commun 103, il vient :

$$\begin{aligned} C_{3,1} &= 103 - 561 + 602 = + 144 \\ C_{3,2} &= 824 - 2\,244 + 1\,204 = - 216 \\ C_{3,3} &= 6\,592 - 8\,976 + 2\,408 = + 24 \end{aligned}$$

En divisant encore par 24 chacun des coefficients $C_{3,i}$, on a finalement :

$$C_{3,1} = + 6 ; C_{3,2} = - 9 ; C_{3,3} = + 1$$

Il est maintenant possible de procéder à l'analyse de variance détaillée :

Somme des Carrés Totale :

$$2^2 + 5^2 + \dots + 10^2 = 405$$

Somme des Carrés Traitements :

$$\frac{20^2}{4} + \frac{16^2}{2} + \frac{21^2}{3} = 375$$

Somme des Carrés Résiduelle :

$$405 - 375 = 30$$

Il reste à décomposer la Somme des Carrés Traitements en :

Somme des Carrés pour la réponse linéaire, soit

$$L = \frac{[(1)(20) + (2)(16) + (4)(21)]^2}{(4)(1^2) + (2)(2^2) + (3)(4^2)} = \frac{136^2}{60} = 308,27$$

Somme des Carrés pour la réponse quadratique, soit

$$Q = \frac{[(-19)(20) + (-23)(16) + (14)(21)]^2}{(4)(19^2) + (2)(23^2) + (3)(14^2)} = \frac{(-454)^2}{3\,090} = 66,70$$

Somme des Carrés pour la réponse cubique, soit

$$C = \frac{[(6)(20) + (-9)(16) + (1)(21)]^2}{(4)(6^2) + (2)(9^2) + (3)(1^2)} = \frac{(-3)^2}{309} = 0,03$$

Le tableau d'analyse de variance se présente comme suit :

Sources de variation	Degrés de liberté	Sommes des carrés	Carrés moyens
Totale	9	405,00	
Traitements	3	375,00	
$\begin{bmatrix} L \\ Q \\ C \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 1 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 308,27 \\ 66,70 \\ 0,03 \end{bmatrix}$	$\begin{bmatrix} 308,27^{**} \\ 66,70^* \\ 0,03 \end{bmatrix}$
Résiduelle	6	30,00	5,00

Les tests F des réponses linéaire et quadratique sont, le premier, hautement significatif (P. 01) et, le second, significatif (P. 05). Il faut choisir la réponse significative du degré le plus élevé, à la probabilité maximum admise (ici, P. 05) pour l'erreur de Type I : c'est, ici, la réponse quadratique.

Il convient maintenant de calculer les totaux-traitements ajustés pour cette réponse quadratique. Un total T_i ajusté se trouve de la façon suivante :

$$T_i \text{ (ajusté)} = r_i(lC_{1,i} + qC_{2,i})$$

où

$$l = \frac{\sum_i C_{1,i} T_i}{\sum_i r_i C_{1,i}^2}$$

$$q = \frac{\sum_i C_{2,i} T_i}{\sum_i r_i C_{2,i}^2}$$

Dans le cas présent,

$$l = \frac{(1)(20) + (2)(16) + (4)(21)}{(4)(1^2) + (2)(2^2) + (3)(4^2)} = \frac{136}{60} = \frac{3\ 502}{1\ 545}$$

$$q = \frac{(-19)(20) + (-23)(16) + (14)(21)}{(4)(19^2) + (2)(23^2) + (3)(14^2)} = -\frac{454}{3\ 090} = -\frac{227}{1\ 545}$$

Par conséquent,

$$T_1 \text{ (ajusté)} = 4 \left[\left(\frac{3\ 502}{1\ 545} \right) (1) + \left(-\frac{227}{1\ 545} \right) (-19) \right] = 20,23$$

$$T_2 \text{ (ajusté)} = 2 \left[\left(\frac{3\ 502}{1\ 545} \right) (2) + \left(-\frac{227}{1\ 545} \right) (-23) \right] = 15,82$$

$$T_3 \text{ (ajusté)} = 3 \left[\left(\frac{3\ 502}{1\ 545} \right) (4) + \left(-\frac{227}{1\ 545} \right) (14) \right] = 21,03$$

Les moyennes m_i ajustées correspondant à ces totaux sont évidemment :

$$m_i \text{ (ajustée)} = lC_{1,i} + qC_{2,i} = \frac{T_i \text{ (ajusté)}}{r_i}$$

soit

$$m_1 \text{ (ajustée)} = 5,06$$

$$m_2 \text{ (ajustée)} = 7,91$$

$$m_3 \text{ (ajustée)} = 7,01$$

L'équation générale d'une réponse polynomiale quadratique $y = f(x)$ passant par l'origine est :

$$y = ax + bx^2$$

Comme on sait que les trois moyennes ajustées se trouvent sur cette parabole, il est facile de calculer a et b en résolvant l'un quelconque des trois systèmes suivants

$$\begin{cases} m_i \text{ (ajustée)} = a X_i + b X_i^2 & i = 1, \quad j = 2 \\ m_j \text{ (ajustée)} = a X_j + b X_j^2 & \text{ou } i = 1, \quad j = 3 \\ & \text{ou } i = 2, \quad j = 3 \end{cases}$$

Cela donne :

$$\begin{aligned} a &= 6,165 \\ b &= -1,105 \end{aligned}$$

Par conséquent, on peut maintenant :

1° écrire l'équation de l'estimation $\widehat{m}$ de la réponse moyenne à la variable indépendante X,

$$\widehat{m} = 6,165 X - 1,105 X^2$$

2° trouver, si besoin est, la valeur de X qui rend la réponse maximale, en résolvant pour X

$$\frac{d\widehat{m}}{dX} = 0$$

ici, la solution est $X = 2,79$

3° obtenir ainsi l'estimation de la réponse maximale interpolée :

$$\widehat{m}(\max) = 6,165 (2,79) - 1,105 (2,79^2) = 8,60$$

Reçu pour publication en janvier 1974.

SUMMARY

POLYNOMIAL REGRESSIONS THROUGH THE ORIGIN.

ANALYSIS OF VARIANCE BY THE METHOD OF ORTHOGONAL COEFFICIENTS

The author presents a general method for computing the orthogonal coefficients necessary for partitioning a total Treatments Sum of Squares into its components of polynomial regressions through the origin. A simple numerical example is fully treated.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DALEBROUX M., 1966. Analyse de la variance. Une méthode générale d'établissement des coefficients orthogonaux permettant la décomposition d'une somme de carrés en ses composantes de régressions polynomiales. *Ann. Amélior. Plantes*, **16** (3), 263-271.

GÈNES MARQUEURS LIÉS AUX GÈNES DE STÉRILITÉ MÂLE *ms 32* ET *ms 35* CHEZ LA TOMATE

Jacqueline PHILOUZE

*Station d'Amélioration des Plantes maraîchères,
Centre de Recherches d'Avignon, I. N. R. A.,
84140 Montfavet*

RÉSUMÉ

Le gène *ms 32* a été localisé sur le chromosome 1. On ne connaît pas pour l'instant de marqueur précoce suffisamment lié à *ms 32* pour être utilisable dans la pratique. Le gène *ms 35* a été localisé sur le chromosome 2. La liaison étroite (1,7 p. 100) entre *ms 35* et *aa*, un bon marqueur au stade plantule, facilitera beaucoup l'utilisation de lignées *ms 35* pour la production d'hybrides F_1 commerciaux.

INTRODUCTION

Les gènes de stérilité mâle *ms 32* et *ms 35* nous ont paru intéressants pour la fabrication d'hybrides F_1 commerciaux chez la Tomate (PHILOUZE, 1969). Nous avons entrepris la recherche de marqueurs précoces, liés à ces gènes de stérilité mâle de façon que le tri entre plantes stériles *ms/ms* et plantes fertiles *ms/ms⁺*, issues du croisement *ms/ms* $\times$ *ms/ms⁺*, se fasse le plus tôt possible sans qu'il soit nécessaire d'attendre la floraison. L'absence de marqueur nécessite soit de planter au stade normal, avant l'épanouissement de la première inflorescence, c'est-à-dire 7 à 8 semaines après le semis, et d'éliminer par la suite les 50 p. 100 de plantes *ms/ms⁺*, soit de retarder la plantation de 1 à 2 semaines, pour ne mettre en place que des plantes *ms/ms* triées au moment de la floraison. Notre travail a été grandement facilité du fait que la carte chromosomique de la Tomate est bien connue. Les *Reports of the Tomato Genetics Cooperative* (Université de Davis, Californie) font chaque année le point des nouveaux mutants, et de leur localisation chromosomique.

MATÉRIEL, MÉTHODES ET RÉSULTATS

Pour chacun des gènes *ms 32* et *ms 35*, notre travail s'est déroulé en 3 étapes :

1° Détermination des groupes de linkage auxquels appartiennent *ms 32* et *ms 35*. Pour cela, nous avons croisé des plantes *ms 32/ms 32* de « Red Cherry » et des plantes *ms 35/ms 35* de « Pearson VF 6 » avec une série de gènes marqueurs se trouvant sur 10 des 12 chromosomes de la Tomate. L'analyse des disjonctions observées en F_2 , auxquelles nous appliquons le test χ^2 , permet de conclure s'il y a indépendance ou linkage entre le gène de stérilité mâle et le marqueur utilisé. Nous avons abordé cette première étape (PHILOUZE, 1969) en testant le linkage entre *ms 32* et 25 marqueurs, et entre *ms 35* et 23 marqueurs.

2° Localisation précise de *ms 32* et *ms 35* sur leurs chromosomes respectifs.

3° Recherche de marqueurs précoces, liés étroitement aux gènes de stérilité mâle.

Recherche de marqueurs liés à *ms 32*Détermination du groupe de linkage auquel appartient *ms 32*.

Matériel et méthodes.

Pour chacun des 25 marqueurs préalablement testés, il y avait indépendance entre *ms 32* et 24 marqueurs, et un cas douteux avec le marqueur *scf* (scurfy) situé sur le chromosome 1. Aussi avons-nous testé le linkage entre *ms 32* et un autre marqueur du chromosome 1 : *au* (aurea).

Résultats.

Dans la F_2 issue du croisement « Red Cherry » [*ms 32*] $\times$ [*au*], nous avons repiqué pour observation au stade fleur, 96 plantules [*au*] et 102 [*au*⁺]. Les disjonctions que nous avons obtenues pour le type de fleurs sont données dans le tableau 1.

TABLEAU 1

Étude de la F_2 « Red Cherry » [*ms 32*] $\times$ [*au*]

Phénotypes	Nombre plantes observées			χ^2 (hypothèse 3-1)
	Total	[<i>ms</i> ⁺]	[<i>ms</i>]	
[<i>au</i>]	96	93	3	24,50**
[<i>au</i> ⁺]	102	62	40	11,00**

** χ^2 significatif au seuil 0,01.

La relation de linkage entre *ms 32* et *au* permet de conclure que *ms 32* est situé sur le chromosome 1.

*Localisation précise de ms 32 sur le chromosome 1.**Matériel et méthodes.*

Nous avons étudié les relations de linkage entre *ms 32* et 7 gènes marqueurs du chromosome 1 :

Gène	Symbole	Phénotype
aurea	<i>au</i>	feuillage jaune
brown seed	<i>bs</i>	graine dont l'albumen est coloré en brun
eramosa	<i>era</i>	tâches blanchâtres sur feuilles
imbecilla	<i>imb</i>	feuillage vert jaune
invalida	<i>inv</i>	tâches chlorotiques sur feuilles
scurfy	<i>scf</i>	cotylédons striés
colorless fruit epidermis ...	<i>y</i>	fruit rose

Dans les F_2 des croisements réalisés entre « Red Cherry » *ms 32/ms 32* et chacun de ces marqueurs, nous avons isolé des recombinants, doubles récessifs, [*ms 32*-marqueur]. Ces recombinants ont été croisés avec la F_1 hétérozygote pour *ms 32* et le marqueur étudié. L'étude des disjonctions de ce testcross donne immédiatement le pourcentage de gamètes parentaux et recombinés chez le parent F_1 , donc la distance en unités de crossing-over entre *ms 32* et le marqueur. Si p est le pourcentage de recombinaison, l'écart-type est $\sigma = \sqrt{\frac{pq}{n}}$, où l'on a $q = 1-p$, et n le nombre total de plantes observées.

Résultats.

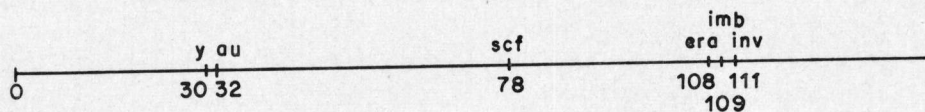
Les distances entre *ms 32* et chacun des marqueurs testés sont données dans le tableau 2.

TABLEAU 2

Distances entre ms 32 et 7 gènes marqueurs du chromosome 1

Distance entre <i>ms 32</i> et marqueur	Unités de crossing-over $\pm 2 \sigma$
<i>au</i>	15,2 $\pm$ 4,4
<i>bs</i>	19,8 $\pm$ 5,1
<i>era</i>	39,5 $\pm$ 4,9
<i>imb</i>	18,9 $\pm$ 7,6
<i>inv</i>	37,5 $\pm$ 6,8
<i>scf</i>	23,6 $\pm$ 6,1
<i>y</i>	15,5 $\pm$ 5,1

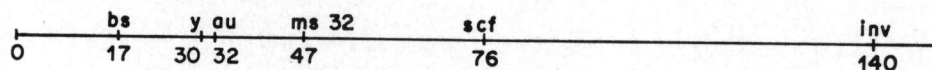
ZOBEL (1972), à la suite de tests réalisés avec *au*, *scf*, *inv*, et tenant compte de la localisation déjà connue de nombreux marqueurs sur le chromosome 1, a proposé l'arrangement suivant pour les marqueurs qui nous intéressent.



D'après les résultats du tableau 2, et les résultats de tests de linkage réalisés entre *bs* (brown seed) et les marqueurs *au*, *era*, *imb*, *inv*, *scf* (PHILOUZE, 1973), nous avons placé les 8 loci dans l'ordre suivant :

bs	y, au	ms 32	imb	scf	inv	era
----	-------	-------	-----	-----	-----	-----

BUTLER (1973) a intégré nos résultats à ceux obtenus par ailleurs pour établir ainsi la position sur le chromosome 1 de 6 des 8 loci qui nous intéressent ici (*era* et *imb* ne sont pas situés avec précision) :



Recherche de marqueurs précoces, liés étroitement à ms 32.

La liaison avec chacun des gènes marqueurs testés (tabl. 2) est trop lâche pour qu'ils puissent être utilisés dans la pratique. Actuellement, on ne connaît pas de marqueur à un stade jeune dont le locus soit situé au voisinage de celui de *ms 32* sur le chromosome 1.

Recherche de marqueurs liés à ms 35

Détermination du groupe de linkage auquel appartient ms 35.

Les tests de linkage entre *ms 35* et 25 marqueurs ont indiqué qu'il y avait indépendance entre *ms 35* et 21 marqueurs, et linkage entre *ms 35* et 4 marqueurs situés sur le chromosome 2 : *s* (compound inflorescence), *Wo^M* (Morgan's Wooly), *aw* (without anthocyanin) et *d* (dwarf). Le gène *ms 35* est donc situé sur le chromosome 2 (PHILOUZE, 1969).

Localisation précise de ms 35 sur le chromosome 2.

Matériel et méthodes.

Trois gènes *ms* de stérilité mâle étaient déjà localisés sur le chromosome 2 : *ms 2*, *ms 10* et *ms 15*. D'après la description de ces 3 mutants (RICK, 1956), *ms 35* était très différent de *ms 2* et *ms 15*, mais ressemblait beaucoup à *ms 10*. Aussi avons nous fait le test d'allélisme entre *ms 35* « Pearson VF 6 » et *ms 10* « San Marzano ».

Résultats.

Ils sont donnés dans le tableau 3.

TABLEAU 3

Test d'allélisme entre ms 35 et ms 10

Croisement	Nombre de plantes observées		χ^2 (hypothèse 1-1)
	[<i>ms</i> ⁺]	[<i>ms</i>]	
<i>ms 35/ms 35</i> × <i>ms 10/ms 10</i> ⁺	31	29	0,07
<i>ms 10/ms 10</i> × <i>ms 35/ms 35</i> ⁺	29	30	0,02

Le χ^2 n'est pas significatif au seuil 0,05.

La stérilité mâle de « San Marzano » *ms 10* et de « Pearson VF 6 » *ms 35* est contrôlée par des allèles au même locus. La position de ce locus sur le chromosome 2 est connue avec précision (à 42 unités sur le bras long).

Recherche de marqueurs précoces, liés étroitement à ms 35.

Matériel et méthodes.

La liaison avec aucun des deux marqueurs *aw* et *d*, identifiables précocement et déjà testés, n'est pas suffisamment étroite pour être utilisable.

La localisation précise de *ms 35* sur le chromosome 2 a permis tout d'abord à ne chercher à connaître la distance qu'avec des marqueurs au stade plantule dont le locus soit situé à proximité de celui de *ms 35*. Seul *wv* (white virescent) répondait alors à ces critères. D'après la carte chromosomique, *ms 35* et *wv* sont à 2 unités de crossing over. Cependant, nous avons abandonné assez rapidement la recherche d'un recombinant [*ms 35 wv*] (seules 419 plantes F_2 [*wv*] issues de l'auto-fécondation de la F_1 $\frac{ms\ 35\ wv^+}{ms\ 35^+ wv}$ ont été observées, toutes étaient [*ms 35^+*]), d'une part parce que *wv* s'est avéré un marqueur difficile à utiliser (les plantes [*wv*] ont une couleur vert-jaune et une croissance affaiblie), d'autre part parce que nous avons trouvé un meilleur gène marqueur lié à *ms 35* : le gène *aa* (anthocyanin absent) est discernable dès la levée et n'affecte pas la croissance de la plante. Ce mutant a été trouvé de façon spontanée à deux reprises à Montfavet, dans les variétés « Marmande » et « Monalbo » (LATERROT et PECAUT, 1970 ; LATERROT, 1971). Nous avons également testé la liaison entre *ms 35* et *are* (anthocyanin reduced) (VON WETTSTEIN-KNOWLES, 1972). Nous avons commencé les tests avec *aa* et *are* avant d'en connaître la localisation sur le chromosome 2, localisation effectuée par BORGNINO *et al.* (1973). Ces auteurs ont localisé *aa* à 32 unités sur le bras long du chromosome 2, la localisation de *are* sur le chromosome 2 n'est pas connue de façon précise. Nous avons fait les croisements avec la lignée « Porphyre » où nous avons introduit *ms 35* par une série de retcroisements. Cette lignée mâle stérile est maintenant utilisée pour la fabrication des hybrides F_1 commercialisés de l'I. N. R. A. « Montfavet n° 63-4 » et « Montfavet n° 63-5 ».

Résultats.

Nous avons obtenu un recombinant [*ms 35 are*] parmi 58 plantes [*are*] issues de la F_2 « Porphyre » [*ms 35*] $\times$ [*are*]. Dans la descendance du testcross $\frac{ms\ 35\ are}{ms\ 35\ are} \times \frac{ms\ 35\ are^+}{ms\ 35^+ are}$, nous avons observé 97 [*ms 35^+ are*], 15 [*ms 35 are*], 9 [*ms 35^+ are^+*] et 76 [*ms 35 are^+*]. La distance entre *ms 35* et *are* est $12,2 \pm 4,7$ unités de crossing-over.

Nous avons obtenu deux recombinants [*ms 35 aa*] parmi 1 203 plantes [*aa*] issues de la F_2 « Porphyre » [*ms 35*] $\times$ « Marmande » [*aa*]. Dans la descendance du testcross $\frac{ms\ 35\ aa}{ms\ 35\ aa} \times \frac{ms\ 35\ aa^+}{ms\ 35^+ aa}$, nous avons observé 306 [*ms 35^+ aa*], 4 [*ms 35 aa*], 6 [*ms 35^+ aa^+*] et 266 [*ms 35 aa^+*]. La distance entre *ms 35* et *aa* est $1,7 \pm 1,1$ unités de crossing-over.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Nos tests ont permis de localiser *ms 32* sur le chromosome 1 et *ms 35* sur le chromosome 2. Nous ne connaissons pas actuellement de marqueur à un stade jeune suffisamment lié à *ms 32* pour être utilisable. Par contre, nous disposons avec *aa* d'un excellent marqueur pour *ms 35* : le caractère se voit dès la levée, il n'est associé à aucun défaut de germination, les plantes [*aa*] ont une croissance et une fructification normale. On pourra planter sans attendre leur floraison les 50 p. 100 de plantes [*aa*]

issues du croisement d'entretien de la lignée mâle stérile $\frac{ms\ 35\ aa}{ms\ 35\ aa} \times \frac{ms\ 35^+ aa^+}{ms\ 35\ aa}$. Il suffira d'éliminer soigneusement de la parcelle au moment de la floraison les 1,7 p. 100 de recombinants [$ms\ 35^+ aa$]. Le travail de production de semences hybrides sur lignée femelle $ms\ 35$ sera de ce fait grandement facilité.

Reçu pour publication en décembre 1973.

SUMMARY

MARKER GENES FOR $ms\ 32$ AND $ms\ 35$ MALE STERILITY GENES IN TOMATO

The $ms\ 32$ gene was localized on chromosome 1. At the present time we don't know any seedling marker enough linked to $ms\ 32$ to be utilized in the practice. The $ms\ 35$ gene was localized on chromosome 2. The tiny linkage (1,7 p. 100) between $ms\ 35$ and aa , a good seedling marker, will make easy the utilization of $ms\ 35$ lines for commercial hybrid seed production.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BORGNO F., RICK C. M., OPEÑA R. T., ZOBEL R. W., 1973. Two more anthocyaninless loci for chromosome 2. *Rep. Tomato Genet. Coop.*, **23**, 13-14.
- BUTLER L., 1973. Linkage summary. *Rep. Tomato Genet. Coop.*, **23**, 9-11.
- LATERROT H., PECAUT P., 1970. Anthocyaninless seedling mutants. *Rep. Tomato Genet. Coop.*, **20**, 20-21.
- LATERROT H., 1971. Anthocyaninless seedling mutants. *Rep. Tomato Genet. Coop.*, **21**, 20-21.
- PHILOUZE J., 1969. Étude de deux gènes de stérilité mâle chez la Tomate : $ms\ 32$ et $ms\ 35$. *Ann. Amélior. Plantes*, **19** (4), 443-457.
- PHILOUZE J., 1973. Mapping of $bs\ 2$ on chromosome 7, and of bs and $ms\ 32$ on chromosome 1. *Rep. Tomato Genet. Coop.*, **28**, 28-29.
- RICK C. M., BUTLER L., 1956. Cytogenetics of the tomato. *Adv. Genet.*, **8**, 267-382.
- WETTSTEIN-KNOWLES (VON) P., 1972. Another locus controlling anthocyanin production : anthocyanin reduced, *are*. *Rep. Tomato Genet. Coop.*, **22**, 34.
- ZOBEL R. W., 1972. Reconsideration of the gene arrangement of 1 L. *Rep. Tomato Genet. Coop.*, **22**, 30-32.

LA MULTIPLICATION VÉGÉTATIVE CHEZ LA LUZERNE

Marie-Thérèse CHESNEAUX

G. E. V. E. S.,

*Groupe des Laboratoires et Services de La Minière,
Guyancourt, 78000 Versailles*

RÉSUMÉ

La Luzerne est une espèce qui se multiplie facilement par bouturage des tiges. Il existe toutefois une aptitude individuelle des plantes au bouturage, une influence du niveau de prélèvement de la bouture sur la tige, de l'époque à laquelle est pratiqué le bouturage et de l'âge de la plante.

Le pourcentage d'enracinement des tissus en pleine croissance du sommet des tiges atteint 80 à 90 p. 100 ; par contre les tissus lignifiés de la base des tiges donnent un enracinement voisin de zéro.

La formation des racines se fait en quinze jours et permet de repiquer les boutures qui donnent alors rapidement des plantes adultes.

I. — INTRODUCTION

Pendant longtemps, la conservation des pieds mères de Luzerne constituant le noyau de départ d'une variété s'est effectué par multiplication végétative sous forme d'éclatement de plantes ou plus récemment de boutures de tiges.

Le pourcentage d'enracinement des boutures était très variable quelle que soit la technique utilisée et on pouvait craindre à long terme, une déviation de la variété par rapport à la composition de départ par perte de certains clones, certaines plantes présentant, semblait-il, une inaptitude au bouturage presque totale. On utilise maintenant des chambres froides à $+ 2^{\circ}\text{C}$ pour le stockage des semences du lot de départ des variétés pendant toute la durée d'inscription sur le *Catalogue français*, et la conservation de ces semences ramenées à 8 p. 100 d'humidité, et placées en emballages plastiques scellés permet un maintien très satisfaisant de leur faculté germinative et donc de la variété elle-même.

Cependant, dans de très nombreux cas, on peut être conduit à multiplier végétativement des plantes aussi bien dans un but de sélection que pour une étude des variétés. Le matériel végétal considéré étant en général très précieux, il est indispensable de pouvoir s'assurer les meilleures chances de réussite du bouturage. C'est dans ce but qu'a été entreprise, pendant trois années consécutives, une série d'essais de bouturage portant sur onze plantes de luzerne prises au hasard dans différentes variétés ; essais dans lesquels ont été étudiés quatre facteurs pouvant intervenir sur la réussite du bouturage :

- influence de la plante individuelle proprement dite ;
- date de prélèvement de la bouture ;
- niveau de prélèvement sur la tige ;
- âge de la plante.

II. — MATÉRIEL, ET MÉTHODES

Les onze plantes étudiées ont été mises en place en pépinière au printemps 1969. Les boutures ont été prélevées sur six tiges par plante à un stade de développement correspondant en général au stade normal de coupe pour une luzerne.

TABLEAU I

Dates de prélèvement des boutures

Année	Date de prélèvement	Stade	Haut. moyenne des plantes (cm)
1970	28/5	bourgeonnement	60 cm
	25/6	début floraison	50 cm
	29/7	bourgeonnement	50 cm
	1/9	végétatif	35 cm
1971	2/6	bourgeonnement	80 cm
	26/7	pleine floraison	120 cm
	27/8	bourgeonnement	60 cm
1972	21/6	floraison	80 cm
	21/7	début floraison	60 cm
	21/9	végétatif	35 cm

Les tiges sont sectionnées entre chaque nœud de façon à obtenir des boutures comportant un nœud et la feuille trifoliée correspondante. Les boutures sont alors placées dans des terrines de vermiculite n° 3, toutes les boutures d'une même plante étant placées dans la même terrine. L'ordre de plantation des boutures reproduit l'image des tiges, chacune étant divisée en trois niveaux : base, milieu, sommet. La totalité de la tige est fractionnée en un nombre de boutures variable avec la saison. Les terrines sont placées en serre et arrosées avec de l'eau ordinaire pour maintenir en permanence une humidité adéquate du substrat, la granulométrie de la vermiculite utilisée permettant une aération suffisante pour la formation correcte des racines.

TABLEAU 2

Pourcentages d'enracinement par plante

Année	Mois	Plantes											Moyenne	Effectifs
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
1970	Juin	57,0	64,6	61,5	40,3	58,5	41,7	71,5	51,8	47,4	62,2	59,0	56,4	309/547
	Juillet.....	69,8	62,7	77,0	83,4	78,0	79,5	69,2	71,3	79,6	88,7	68,3	75,2	407/541
	Septembre	25,4	44,5	30,5	45,8	68,5	32,1	63,5	56,0	61,7	58,7	26,6	46,9	252/537
	Moyenne	50,7	57,3	56,3	56,5	68,7	51,1	64,7	59,7	62,9	69,9	51,3	59,8	
1971	Juin	26,4	46,0	53,1	44,1	45,0	26,6	30,0	47,8	21,1	34,3	19,4	35,4	276/780
	Juillet.....	55,6	34,5	56,5	65,4	55,4	62,2	50,0	47,8	42,4	37,8	23,4	49,1	483/983
	Septembre	68,6	87,5	50,0	52,8	75,5	81,0	58,5	69,0	77,0	55,0	57,2	67,6	372/550
	Moyenne	50,2	55,9	53,2	54,1	58,6	56,6	46,2	54,9	46,8	42,7	33,3	50,7	
1972	Juin	39,2	39,2	40,0	40,8	44,4	13,0	1,9	18,0	31,2	28,9	19,5	27,9	147/527
	Juillet.....	24,2	44,5	54,9	51,5	61,6	67,6	55,2	59,4	33,3	32,1	45,2	48,5	165/340
	Septembre ⁽¹⁾	0	0	7,1	0	2,9	0	6,7				8,6	2,9	8/274
	Moyenne	21,1	27,9	34,0	30,8	36,3	26,9	21,3	38,7	32,3	30,5	24,4	26,4	
Moyenne générale des 3 années		40,7	47,0	47,8	47,1	54,5	44,9	54,1	41,1	47,3	47,7	36,3	45,0	

⁽¹⁾ Trois plantes non repoussées n'ont pas été prélevées.

La lecture des résultats a lieu quinze jours après la mise en place des boutures, et consiste en un simple comptage des boutures racinées sans tenir compte du nombre de racines émises, ni de leur longueur.

En 1972, la lecture a été faite à deux dates, quinze et trente jours après la mise en place, chaque comptage portant sur trois tiges.

III. — RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les pourcentages des boutures racinées par plante, par mois et par année, sont rassemblés dans le tableau 2.

Dans le tableau 3, sont indiqués les résultats globaux, toutes plantes confondues, pour les niveaux, les mois et les années. Dans le tableau 4, se trouvent les résultats par mois, les années et les plantes étant confondues. Le tableau 5 résume les résultats globaux permettant de juger l'évolution de l'enracinement par année. Une analyse de variance a été effectuée à partir des données individuelles ; elle a porté sur les quatre effets principaux et les six interactions du premier ordre, à savoir :

Effet principal	Interaction
Plante	Plante × niveau
Niveau	Plante × année
Année	Plante × mois
Mois	Niveau × année
	Niveau × mois
	Année × mois

L'absence de données sur trois des plantes non repoussées en septembre 1972, a conduit à effectuer plusieurs séries d'analyses de variance.

D'autre part, les observations ont montré que le nombre de boutures racinées provenant de la base des tiges était voisin de zéro ; une série d'analyses a donc été effectuée en ne considérant que deux niveaux : milieu et sommet des tiges. Le tableau 6 regroupe les résultats de ces six analyses en indiquant les différences significatives. Quelques remarques s'imposent à la lecture de ce tableau. Les quatre effets principaux sont très hautement significatifs, ce qui signifie que :

- toutes les plantes ne se comportent pas de la même façon vis-à-vis du bouturage ;
- le sommet des tiges est toujours plus apte à produire des boutures que le reste de la tige ;
- le mois de juillet est plus favorable à la réussite du bouturage que les mois de juin et septembre sauf en 1971 où les facteurs climatiques ont perturbé la repousse.
- les plantes de quatre ans fournissent des tiges qui conviennent moins bien au bouturage.



FIG. 1. — *Aspect des boutures quinze jours après leur mise en place*

en haut : boutures provenant de la base des tiges

en bas : boutures provenant du sommet des tiges

A noter la plante 74 qui ne produit des boutures enracinées qu'au sommet des tiges

TABLEAU 3

Pourcentages moyens d'enracinement par niveau

Niveau	Année									Moyenne générale
	1970			1971			1972			
	juin	juil.	sept.	juin	juil.	sept.	juin	juil.	sept.	
Base	19,2	52,6	9,6	10,1	18,4	33,5	3,7	10,6	0	17,5
Milieu	44,1	91,1	55,9	22,4	63,8	72,6	17,6	54,2	0	46,8
Sommet	94,0	91,8	94,6	88,3	63,5	98,9	64,7	85,4	8,4	76,6
Moyenne générale	56,4	75,2	46,9	35,4	49,1	67,6	27,9	48,5	2,9	

TABLEAU 4

Pourcentages moyens d'enracinement par mois

Mois	Niveau			Moyenne générale
	Base	Milieu	Sommet	
Juin	11,0	28,0	82,3	40,4
Juillet	27,2	69,7	42,8	46,6
Septembre	14,4	57,2	67,3	46,3
Moyenne générale ...	17,5	51,6	64,1	

TABLEAU 5

Pourcentage moyen d'enracinement par année

Année	Niveau			
	Base	Milieu	Sommet	Moyenne
1970	27,1	63,7	93,5	61,4
1971	20,7	52,9	83,6	52,4
1972	4,8	23,9	52,8	27,2
Moyenne générale	17,5	46,8	76,6	

La Luzerne, comme de très nombreuses autres espèces, se prête d'autant mieux à la multiplication végétative que les tiges sont en pleine croissance et les tissus non encore lignifiés. Ceci a été vérifié par l'expérience complémentaire suivante : une des

TABLEAU 6

Résultats des analyses de variance

	11 plantes 2 mois 3 années 2 niveaux	11 plantes 2 mois 3 années 3 niveaux	11 plantes 3 mois 2 années 2 niveaux	11 plantes 3 mois 2 années 3 niveaux	8 plantes 3 mois 3 années 2 niveaux	8 plantes 3 mois 3 années 3 niveaux
<i>Effets principaux :</i>						
Plantes	SS	SSS	SSS	SSS	SS	SSS
Niveau	SSS	SSS	SSS	SSS	SSS	SSS
Année	SSS	SSS	SSS	SSS	SSS	SSS
Mois	SSS	SSS	SSS	SSS	SSS	SSS
<i>Interactions du 1^{er} ordre :</i>						
Plantes × niveau	NS	NS	SS	SSS	NS	NS
Plantes × année	SS	SS	SSS	SSS	SS	SS
Plantes × mois	SS	SSS	S	SSS	SS	SSS
Niveau × année	NS	S	NS	NS	NS	NS
Niveau × mois	SSS	SSS	SSS	SSS	SSS	SSS
Année × mois	SSS	SSS	SSS	SSS	SSS	SSS
Moyenne	56,93	45,13	63,44	51,08	53,70	42,45
Écart-type	8,34	8,55	8,28	7,59	10,58	9,67
Coefficient de variation (%)	14,65	18,95	13,05	14,87	19,71	22,77

NS : non significatif ;

S : significatif au seuil $p : 0,05$;

SS : — — $p : 0,01$;

SSS : — — $p : 0,001$.

plantes a été éclatée pendant l'hiver 1973 de manière à disposer de trois plantes adultes. Ces trois plantes ont été coupées au stade floraison, puis placées dans trois conditions différentes :

- chambre de culture : 22°C constant, lumière continue ;
- serre : température non contrôlée, éclairage d'appoint ;
- conditions naturelles.

Elles ont ensuite été bouturées toutes les trois au stade bourgeonnement, c'est-à-dire au bout de trois semaines pour la première condition, de cinq semaines pour la deuxième et deux mois pour la troisième. Les résultats (tabl. 7) montrent que la plante élevée en chambre de culture s'est développée très rapidement et a donné le meilleur pourcentage d'enracinement.

Avant de conclure il convient également d'examiner les résultats observés en 1972 à la suite de deux comptages effectués respectivement 15 et 30 jours après le

prélèvement, le tableau 8 montre qu'on a intérêt, pour des plantes relativement âgées, à prolonger le temps d'enracinement.

TABLEAU 7

Pourcentages d'enracinement observés sur trois plantes identiques placées en conditions différentes

	Niveau de la tige			Moyenne générale
	Base	Milieu	Sommet	
Chambre de culture	50,0	57,2	94,6	67,3
Serre	13,3	73,4	94,7	60,5
Conditions naturelles	7,7	33,3	100,0	47,0

TABLEAU 8

Pourcentage d'enracinement à 15 et 30 jours

	Plantes											Moyenne
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Juin												
1 ^{er} comptage ..	39,2	39,2	40,0	40,8	44,4	13,0	1,9	18,0	31,2	28,9	19,5	27,9
2 ^e comptage ...	82,0	65,9	71,5	77,5	97,8	73,5	74,5	70,2	80,4	80,4	84,0	77,9
Juillet												
1 ^{er} comptage ..	24,2	44,5	54,9	51,5	61,6	67,6	55,2	59,4	33,3	32,1	45,2	48,5
2 ^e comptage ...	20,7	80,7	80,7	80,7	86,7	93,0	88,0	88,2	71,0	75,8	84,8	77,3
Septembre												
1 ^{er} comptage ..	0	0	7,1	0	2,9	0	6,7				8,6	2,9
2 ^e comptage ...	0	3,3	24,2	5,1	3,1	10,5	10,3				33,0	11,2

Reçu pour publication en décembre 1973.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier M. ARNOUX, Chef du service de Biométrie du C. N. R. A. qui a bien voulu se charger des calculs statistiques.

SUMMARY

VEGETATIVE REPRODUCTION IN LUCERNE

Lucerne is a species which readily reproduces by stem cuttings. The plants, however, have an individual ability for cutting, and an influence is exercised by the level on the stem from where the cutting is taken off, the time when this cutting is taken off, and the age of the plant.

The rooting percentage of the rapidly growing stem tip tissues reaches 80 to 90 p. 100 ; on the other hand, rooting of the lignified tissues of the stem bases is practically nil.

In two weeks, it is possible to obtain rooted cuttings, which develop rapidly into adult plants.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- MARCAVILLACA M. C., 1971. Regeneration of Alfalfa by leaves. *Rev. Invest. agropec. Série 2. Biol. Prod. veg.*, **8**, 5, 201-210.
- MARCAVILLACA M. C., *et al.*, 1971. Regeneration by isolated root sections of *Medicago sativa* L. cv « Rambier » (Esp. an.). *Rev. Invest. agropec.*, Ser. 2, *Biol. Prod. veg.*, **8**, 5, 179-199.
- SMITH D., 1950. The occurrence of adventitious shoots on several alfalfa roots. *Agron. J.*, **42**, 398-401.
- WHITE W. J., 1946. An improved method of rooting alfalfa cuttings. *Scient. Agric.*, **26**, 5, 194-197.
-

INFORMATIONS

INSTITUT PASTEUR, PARIS
ENSEIGNEMENTS 1974-1975

Ces enseignements sont du niveau post-universitaire. Ils sont destinés aux diplômés des Facultés des Sciences, de Médecine, de Pharmacie et aux anciens élèves des grandes Écoles. Toutefois, des étudiants en fin de scolarité pourraient être également admis dans la mesure des places disponibles.

I. — ENSEIGNEMENTS GÉNÉRAUX

COURS DE MICROBIOLOGIE GÉNÉRALE

Méthodologie — Anatomie fonctionnelle des bactéries — Physiologie microbienne — Fonction du gène et mutations — Échanges génétiques — Bactériophages — Régulation des biosynthèses

Structure et physiologie des cellules eucaryotes — Anatomie structurale et biochimique des virus — Réplication des virus à ARN et à ADN — Génétique des virus — Virus oncogènes.

Plein temps, sauf le samedi après-midi, de fin septembre à fin février.

COURS DE MICROBIOLOGIE SYSTÉMATIQUE

Généralités — Techniques bactériologiques — Étude des divers groupes de bactéries d'intérêt médical.

Généralités — Techniques virologiques — Étude des divers groupes de virus d'intérêt médical.

Plein temps, sauf le samedi après-midi, de début septembre à début mars.

COURS D'IMMUNOLOGIE APPROFONDIE

Les techniques immunologiques — Les Immunoglobulines — Immunologie cellulaire.

Plein temps, sauf le samedi, de mars à juillet.

COURS D'IMMUNOLOGIE GÉNÉRALE

Méthodes de l'Immunologie — Antigènes, anticorps, réactions antigènes-anticorps — Immunochimie — Éléments d'Immunologie cellulaire.

Plein temps, sauf le samedi, de mars à juin.

II. — ENSEIGNEMENTS SPÉCIALISÉS

COURS DE MICROBIOLOGIE DU SOL

Bactéries responsables des cycles biologiques du carbone, de l'azote et des principaux éléments minéraux — Population du sol — Interactions des micro-organismes entre eux et avec les plantes — Facteurs édaphiques et climatiques — Humus et humification.

Plein temps, sauf le samedi après-midi (septembre : 4 semaines).

COURS D'IMMUNOLOGIE DES INFECTIONS BACTÉRIENNES ET VIRALES

Phénomènes immunitaires dans les infections bactériennes et virales — Modèles d'applications au diagnostic — Pathologie de l'immunité anti-infectieuse.

Plein temps, sauf le samedi, de mi-juin à mi-juillet.

COURS DE MYCOLOGIE MÉDICALE

Champignons pathogènes pour l'homme et les animaux : Morphologie, Physiologie, Biochimie, Écologie. Mycoses : Clinique, Diagnostic biologique, Histopathologie, Immunologie, Antifongiques.

Tous les après-midi, sauf le samedi et le matin deux fois par semaine (fin septembre à fin octobre).

COURS D'IMMUNO-HÉMATOLOGIE ET D'IMMUNO-PATHOLOGIE MÉDICALES

Immuno-hématologie (érythrocytaires, leucocytaires et sériques) — Immuno-pathologie des affections thyroïdiennes, gastriques, musculaires, rénales, hépatiques et des collagénoses.

Plein temps, sauf le samedi après-midi (juillet : 4 semaines).

COURS D'INITIATION A LA RECHERCHE EN ÉPIDÉMIOLOGIE DES MALADIES TRANSMISSIBLES

Disciplines biologiques — Disciplines écologiques — Disciplines expérimentales — Disciplines mathématiques : statistique, informatique, biomathématique.

Tous les après-midi, sauf le samedi (février-mars : 7 semaines).

III. — ENSEIGNEMENTS MÉTHODOLOGIQUES

COURS DE CULTURES CELLULAIRES APPLIQUÉES A LA VIROLOGIE

Méthodes de cultures cellulaires appliquées à l'étude des virus — Différents types de cultures cellulaires (cellules primaires, de lignée continue, etc.) — Isolement des virus — Différentes méthodes d'identification — Titration des virus — Principales applications pratiques de ces méthodes.

Plein temps, sauf le samedi après-midi (novembre : 2 semaines) Nombre d'élèves : 20.

COURS DE MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

Aspects physiques de la formation de l'image — Dispositifs — Méthodes de préparation des objets — Photomicrographie — Autoradiographie — Mesures — (Options : cryo-décapage, microscopie électronique à balayage.)

Plein temps, sauf le samedi (mars : 2 semaines). Nombre d'élèves : 8.

COURS SUR LE MARQUAGE DES ANTICORPS

Immunoabsorbants — Marqueurs fluorescents, enzymes... Application aux recherches biologiques.

Plein temps (avril : 9 journées).

COURS SUR L'APPLICATION DES RÉACTIONS D'IMMUNOFLUORESCENCE
ET IMMUNOENZYMATIQUES A L'ÉTUDE DES MALADIES DE L'HOMME

Affections bactériennes et virales — Immunopathologie — Antigènes tumoraux.

Plein temps (avril : 6 journées).

Le nombre de places étant limité, il convient de déposer les candidatures plusieurs mois à l'avance. Les dates de ces cours sont susceptibles de modifications d'une année à l'autre. Les candidats retenus en seront informés en temps voulu.

Les demandes de renseignements et les candidatures doivent être adressées au :

Secrétariat Général des Enseignements
Institut Pasteur - 28, rue du Docteur-Roux
75015 Paris

CONTENTS

Fanja MONDEIL. — Microspores irradiation in anther culture : testing a new technique to obtain mutations immediatly detected and fixed (Application to <i>Nicotiana tabacum</i>)	1
J. COHAT. — Contribution to the study of Summer Gladiolus (<i>Gladiolus grandiflorus</i> HORT.) tuberization	13
Yvette DATTÉE. — Consanguinity effect on pods and seeds production in Lucerne (<i>Medicago sativa</i> L.)	25
Yvette DATTÉE. — Effect of interactions between parental genotypes on seeds production in Lucerne (<i>Medicago sativa</i> L.)	37
Georgette RISSER, G. AUBERT. — Effects of morphactin on growth and floral biology of Melon (<i>Cucumis melo</i>)	45
Catherine BERGOUIGNIUX. — Inducing regeneration from the corolla in <i>Petunia hybrida</i> ..	55
Marie-Thérèse CHESNEAUX. — Contribution to the study of Lucerne seed production under artificial conditions with a view to speeding up generations. I. — Influence of the nutritive solution nitrogen concentration	63
M. A. DALEBROUX. — Polynomial regressions through the origin. Analysis of variance by the method of orthogonal coefficients.	71
Jacqueline PHILOUZE. — Marker genes for <i>ms 32</i> and <i>ms 35</i> male sterility genes in Tomato	77
Marie-Thérèse CHESNEAUX. — Vegetative propagation in Lucerne.	83
Informations	93

RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

Le manuscrit doit être dactylographié sur papier format 21 × 29,7, avec un double interligne, au recto seulement. Chaque page sera numérotée et des feuilles séparées seront utilisées pour les références bibliographiques, les tableaux, les légendes des figures et graphiques, etc.

Au début de chaque mémoire, on indiquera : — *le titre du mémoire*; il ne devra pas comporter d'abréviations ni de formules chimiques (sauf pour les isotopes) ; — *le nom des auteurs*, précédé des initiales du prénom pour les hommes, du prénom complet pour les femmes ; — *le nom des techniciens* ayant collaboré à l'étude relatée, précédé de la mention : avec la collaboration technique de... ; *le nom de l'établissement*, dans lequel ont été effectuées les recherches et son adresse.

Les mémoires seront rédigés, autant que possible, d'après le plan ci-dessous :

a) *résumé* (250 mots max.) suffisamment précis pour que sa lecture renseigne sur la nature du travail et son importance ; b) *introduction* dans laquelle on indique l'objet des recherches entreprises en relation avec les travaux déjà effectués dans le domaine ; c) *techniques expérimentales et matériel utilisé*, en donnant, sous une forme concise, tous les détails nécessaires pour que le lecteur puisse répéter les expériences ; d) *résultats*, à présenter de la manière la plus brève possible ; e) *discussion et conclusion* ; f) *titre et résumé* en anglais ou destiné à être traduit en anglais comportant une analyse complète de l'article ; g) *remerciements* pour les collaborations, les fonds, les dons... ; h) *références bibliographiques*.

Les travaux originaux en anglais doivent présenter la même composition que les mémoires rédigés en français, mais ils comportent obligatoirement un résumé français très complet. Les figures, graphiques, tableaux et photographies seront sous-titrés en français.

Pour les autres documents (notes, mises au point, revues, rapports, etc.), l'auteur devra suivre un plan logique et le mettre en évidence par une titration appropriée.

Les références bibliographiques doivent être citées dans le texte de la manière suivante : (DUPONT et DUVAL, 1954). Lorsque la référence comporte plus de trois auteurs, seul le premier sera mentionné, suivi de *et al.* A la fin de l'article, les références constituant la bibliographie doivent être citées par ordre alphabétique des noms d'auteurs, et par ordre de dates pour un même auteur.

Pour les articles : le (s) nom (s) de (s) auteur (s) suivi (s) des initiales du (des) prénom (s) ; la date de parution de l'article ; le titre de l'article (dans la langue originale pour l'allemand, l'anglais, l'italien, l'espagnol et en français dans tous les autres cas, avec indication entre parenthèses de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de la première et la dernière page de l'article.

Pour les ouvrages : le nom de l'auteur avec les initiales du prénom ; la date de l'édition ; le titre complet de l'ouvrage dans la langue originale, sans abréviations (pour les langues utilisant des alphabets autres que l'alphabet latin, la traduction du titre sera donnée entre parenthèses, avec mention de la langue d'origine) ; le volume ; la première et la dernière page du paragraphe se rapportant aux résultats discutés, et, si l'on cite l'ouvrage en entier, le nombre de volumes et le nombre total de pages ; le numéro de l'édition s'il y en a plusieurs ; le nom de l'éditeur ; le lieu de l'édition. Si l'ouvrage est collectif, on indiquera en plus le nom de l'auteur du chapitre cité, le nom des rédacteurs principaux, précédé de la mention « in », le titre de l'ouvrage.

La mention de « communications personnelles » ou « données non publiées » etc. doit être faite entre parenthèses. Lorsque l'auteur a relevé une référence dans une revue d'« Abstracts », le mentionner à la fin de la référence, entre parenthèses.

Les tableaux, dessins, graphiques, cartes, photographies, doivent être fournis à part. Les tableaux et figures doivent faire l'objet de deux numérotations distinctes, en chiffres arabes l'une et l'autre.

Les auteurs peuvent disposer leurs tableaux soit dans le sens de la largeur de la revue, soit dans le sens de la longueur. Dans le sens de la largeur, le total des signes et des espaces disponibles est de 100. Dans le sens de la longueur, il est de 155. Les tableaux en longueur, c'est-à-dire ceux pouvant disposer de 155 signes, ne seront admis que s'ils comprennent plus de 8 lignes de chiffres, de manière qu'une page entière de la revue ne soit pas occupée par un tableau très long et très étroit. Les graphiques ne doivent pas faire double emploi avec les tableaux.

Les légendes et les énoncés des graphiques et dessins doivent être dactylographiés sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Les graphiques, schémas, cartes, dessins d'appareils seront envoyés soit à l'état définitif soit à l'état de projets, leur exécution définitive étant confiée au Bureau de Dessin de l'I. N. R. A. Seules deux réductions à l'impression sont admises : soit × 0,5, soit × 0,25.

Il est rappelé que le format utile des Annales est : 12,5 × 19 cm ; ces dimensions ne doivent pas être dépassées.

Photographies : Il est recommandé de fournir des épreuves bien contrastées sur papier blanc, et de préférence en format 9 × 12. Si les photographies doivent être associées pour constituer des planches, on adoptera les normes suivantes : 2 photos 9 × 12, 4 photos 9 × 5,5, 6 photos 5,5 × 5,5. Dans ce cas, chaque photo devra porter un numéro en chiffres arabes visible après clichage.

Les légendes des photographies doivent être dactylographiées sur une même feuille séparée et porter les numéros des figures.

Il est demandé d'indiquer sur le manuscrit, dans la marge, en regard du texte, l'emplacement souhaité des tableaux et figures.

Envoi du manuscrit : M. RIVES ; Centre de Recherches de Bordeaux, 33140 Pont de la Maye, France. On demande deux exemplaires.

Correction des épreuves : les épreuves que les auteurs recevront à corriger sont à retourner, après correction, à cette même adresse.

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

PÉRIODIQUES

TARIF DES ABONNEMENTS POUR 1974	France	Étranger	Le N°
ANNALES AGRONOMIQUES, 6 n°s par an	175 F	190 F	35 F
ANNALES DE L'AMÉLIORATION DES PLANTES, 4 n°s par an	135 F	150 F	45 F
ANNALES DE PHYTOPATHOLOGIE, 4 n°s par an	155 F	170 F	55 F
ANNALES DE ZOOLOGIE-ÉCOLOGIE ANIMALE, 4 n°s par an	155 F	170 F	55 F
ANNALES DE ZOOTECHNIE, 4 n°s par an	155 F	170 F	55 F
ANNALES DE TECHNOLOGIE AGRICOLE, 4 n°s par an	135 F	150 F	45 F
ANNALES DE BIOLOGIE ANIMALE, BIOCHIMIE, BIOPHYSIQUE, 4 n°s par an	175 F	190 F	60 F
ANNALES DES SCIENCES FORESTIÈRES, 4 n°s par an	135 F	150 F	45 F
ANNALES DE GÉNÉTIQUE ET DE SÉLECTION ANIMALE, 4 n°s par an	155 F	170 F	55 F
ANNALES DE RECHERCHES VÉTÉRINAIRES, 4 n°s par an	155 F	170 F	55 F
ANNALES D'HYDROBIOLOGIE, 2 n°s par an	80 F	90 F	55 F

APIDOLOGIE, 4 n°s par an — Abonnement : France : 38 F
 Étranger sauf R. F. A. : 48 F
 — Le numéro : France : 12 F
 Étranger sauf R. F. A. : 13,50 F

DERNIERS OUVRAGES PARUS

Contribution à l'étude de la Faune de France. Systématique de la tribu des Scymnini (Coccinellidae), par J. M. Gourreau. 223 p., 1974	85,00 F
Les arbres et arbrisseaux acclimatés en région méditerranéenne française. Catalogue commenté, par P. Augé, P. Allemand, R. Hamès. 144 p., 1973	58,85 F
Colloque sur l'ovogenèse et la folliculogenèse, Nouzilly, 14-16 déc. 1972. 258 p., 1973	120,00 F
Protoplastes et fusion de cellules somatiques végétales, Versailles, 11-15 septembre 1972. Coédition I. N. R. A.-C. N. R. S. 549 p., 1973	160,50 F
Recherches acridiennes à Madagascar. 262 p., 1972	80,00 F
IV^e Conférence du groupe international d'étude des virus et des maladies à virus de la vigne, Colmar 16-18 juin 1970. 211 p., 1972	60,00 F
Lombriciens de France, Écologie et Systématique par M.-B. Bouché. 671 p., 1972	150,00 F
III^e Conférence du Groupe consultatif des Statisticiens forestiers, Jouy en Josas, 7-11 septembre 1970. 332 p., 1972	139,75 F
Symposium international sur le soufre en Agriculture. Versailles, 3-4 décembre 1970. 412 p., 1972	50,00 F
Organismes du Sol et production primaire — IV^e Colloquium pedobiologiae, Dijon 14-19 septembre 1970. 588 p., 1972	65,00 F
La lutte biologique en forêt, Pont-à-Mousson, 12-14 novembre 1969. 212 p., 1971	45,00 F
VIII^e Symposium européen sur les maladies à virus des arbres fruitiers. Bordeaux, 24-30 juin 1970. 560 p., 1971	65,00 F
Essai de programmation de la Recherche (Département agronomie) par D. Macquart, R. Gras, J. Mamy, L. Turc, J.-P. Deffontaines. 70 p., 1971	30,00 F
Quatrième Congrès mondial I. A. A. L. D., Paris 20-25 avril 1970. 342 p., 1971	53,75 F

Les demandes d'abonnements et les commandes doivent être adressées au Service des Publications de l'Institut national de la Recherche agronomique, route de Saint-Cyr, 78000 Versailles.
 Règlement : par chèque bancaire à l'ordre du Régisseur des Publications de l'I. N. R. A., par virement postal à son compte courant : 9064-43 Paris, sans mentionner d'adresse, ou par bons U. N. E. S. C. O.
 Les demandes peuvent être souscrites également par l'intermédiaire des libraires dans les conditions habituelles.
 A Paris, bureau de vente : 11, rue Jean-Nicot.

TABLE DES MATIÈRES

Fanja MONDEIL. — Irradiation de microspores en culture d'anthers : essai d'une nouvelle technique d'obtention de mutations immédiatement décelables et fixables (Application à <i>Nicotiana tabacum</i>).....	I
J. COHAT. — Contribution à l'étude de la tubérisation du Glaïeul d'été (<i>Gladiolus grandiflorus</i> HORT.).....	13
Yvette DATTÉE. — Effet de l'apparentement sur la production de graines en croisement chez la Luzerne (<i>Medicago sativa</i> L.).....	25
Yvette DATTÉE. — Influence des interactions entre les génotypes parentaux sur la production de graines chez la Luzerne (<i>Medicago sativa</i> L.).....	37
Georgette RISSER, G. AUBERT. — Effets d'une morphactine sur la croissance et la biologie florale du Melon (<i>Cucumis melo</i>).....	45
Catherine BERGOUIGNIUX. — Déclenchement des phénomènes de régénération sur des pétales de <i>Petunia hybrida</i>	55
Marie-Thérèse CHESNEAUX. — Contribution à l'étude de la production de graines de Luzerne en conditions artificielles en vue d'accélérer les générations. I. — Influence de la concentration en azote de la solution nutritive.....	63
M. A. DALEBROUX. — Régressions polynomiales par l'origine. Analyse de variance par la méthode des coefficients orthogonaux.....	71
Jacqueline PHILOUZE. — Gènes marqueurs liés aux gènes de stérilité mâle <i>ms 32</i> et <i>ms 35</i> chez la Tomate.....	77
Marie-Thérèse CHESNEAUX. — La multiplication végétative chez la Luzerne.....	83
Informations	93

Contents, see at the end of the issue

Les Annales de l'Amélioration des Plantes figurent dans Current Contents